REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

VOLUME 20 DEZEMBRO, 1960 NÚMERO 4

INTERMEDIATE NEPHRON NEPHROSIS EXPERIMENTALLY INDUCED WITH "CROTALUS T. TERRIFICUS" VENOM IN THE DOG[1]

MOACYR F. AMORIM, RAUL F. MELLO and FERES SALIBA
Escola Paulista de Medicina, S. Paulo Instituto Butantan S. Paulo

(With 2 text-figures)

Hemoglobinuric nephrosis is not easily produced experimentally in laboratory animals (1). Two synergic factors are necessary: excretion of hemoglobin and a certain degree of tubular lesion. A picture resembling hemoglobinuric nephrosis was procured by means of endovenous injections of concentrated solution of hemoglobin in rabbits whose uriniferous tubes had been previously damaged by a short ischaemia obtained by simple mechanical occlusion of the renal artery by clamping the renal pedicle for periods of 15 to 25 minutes, or also by the subcutaneous injections of a 20% solution of sodium tartrate in a dosage of 0,80 to 0,90 g per kg of body weight (2).

AMORIM & MELLO (3, 4) demonstrated renal lesions in 3 cases of autopsy of persons bitten by rattlesnake, *Crotalus t. terrificus,* identical to those found in the so-called crush syndrome or hemoglobinuric nephrosis, also denominated nephrosis of the lower nephron (5) or nephrosis of the intermediary nephron (3, 4). This latter denomination was preferred as being more in accordance with the classic nomenclature employed in designating various segments of the nephron (6, 7, 8).

We endeavored to reproduce hemoglobinuric nephrosis experimentally by injecting dogs with rattlesnake venom.

MATERIAL AND METHODS

Seven adult male and one female (N.º 2) dogs whose weight varied from 6 to 14 kg were used in our experiments. We used dried rattlesnake venom, *C. t. terrificus* whose activity, marked by the minimum lethal dose in pigeons

[1] Received for publication September 21, 1960.
This work was partially supported by a grant from the Brazilian National Research Council.

weighing from 250 to 320 g, was from 1 to 2 micrograms. After weighing, the dry poison was dissolved in a physiological solution in a volume of 0,5 to 1,0 cm^3 per kg of body weight, administered by subcutaneous injection. Doses of dry rattlesnake poison injected varied from 0,5 to 2,0 mg per kg of body weight. All doses, except in the case of dogs n.º 9 and 10, which received 3 subcutaneous injections (two 0,5 and one, 1,0 mg per kg of body weight) were administered by means of a single injection.

The benzidine reaction was used to test for free hemoglobin after filtering the urine (9). The LEPEHNE method (10, 11) based on the benzidine reaction was also used to test hemoglobin on histological sections of the kidney. Examination of centrifugalized, unfiltered urine sediment was always made for testing for blood cells.

RESULTS

The results of the experiments are shown in Table I. Duration of observation in the experiments with 8 dogs injected with rattlesnake poison (*C. t. terrificus)* was from 7 hours to a maximum of 9 days and 4 hours (Dogs n.º 3 and n.º 9). Six animals died from crotalic poisoning, 1 dog (n.º 9) was killed with anesthetic ether, and no autopsy was performed on animal n.º 6, since it recuperated completely. Three dogs presented oliguria and 1 animal presented anuria (n.º 5).

Free hemoglobin in the filtered urine, evidenced by the benzidine test, was noted in 6 dogs. Thus, hemoglobinuria was positive in 6 animals. There was no hematuria since the test for blood cells in the sediment of centrifugalized but unfiltered urine was always negative. No blood cells were found within either the uriniferous tubules or in the space of Bowman's capsule on histological sections of the kidney. Hemoglobin casts were found in the uriniferous tubules of histological sections of the kidney of 5 dogs. The simultaneous presence was noted of free hemoglobin in the urine and of hemoglobin casts in the uriniferous tubules on histological sections of the kidney of 4 animals (1, 2, 9 and 10). One dog (n.º 6) on which the benzidine test in the urine was positive 9 hours after poison had been injected, improved noticeably after the fourth day, the benzidine reaction becoming negative upon the animal's rocovery.

The histological lesions of the tubules are principally characterized by degenerative and more serious necrobiotic lesions in the so-called intermediate segment of the nephron, i.e., the ascending branch of Henle's loop and of the distal, or secondary convoluted tubule predominating in the boundary zone of the kidney. The hemoglobin casts or their derivatives (12) may be found within the intermediate zone. They are more numerous in the boundary and medullar zones of the kidney and, in some cases, are apparent from *Cortex corticis* beneath the capsule to the papilla of the kidney.

TABLE I

Effect on the kidney of dogs of subcutaneous injections of Crotalus t. terrificus venom

Observation N.°	Dog N.°	Body weight in kg	Duration of the observation	N.° of injections	Am't of dry poison mg per kg of body weight	Total am't of venom in mg	Volume of physiological solution in ml	Anuria	Oliguria	Hematuria	Hemoglobinuria	Hemoglobin casts in histological sections	Remarks
1	1-♂	12,5	9 hrs. †	1	2,0	25,0	12,5	—	+	—	++	++	† Died from crotalic poisoning
2	2-♀	6,0	28 hrs. †	1	2,0	12,0	6,0	—	—	—	++	+	† Idem
3	3-♂	12,5	7 hrs. †	1	1,0	12,5	12,5	—	+	—	—	+	† Idem
4	4-♂	13,5	17 hrs. †	1	1,0	13,5	13,5	—	+	—	+	—	† Idem
5	5-♂	9,0	11½ hrs. †	1	0,5	4,5	4,5	+	—	—	—	—	† Idem
6	6-♂	8,0	4 days*	1	0,5	4,0	4,0	—	—	—	+	*	* Recuperated. No autopsy performed
7	9-♂	14,0	1 st day	1	0,5	7,0	14,0	—	—	—	—		
			4 th »	1	0,5	7,0	14,0	—	—	—	++		
			6 th »	1	1,0	14,0	14,0	—	—	—	++		
			9 th day, 4 hrs. †	—	—	—	—	—	—	—	++	+	† Killed with ether
8	10-♂	10,0	1 st day	1	0,5	5,0	10,0	—	—	—	++		
			5 th »	1	0,5	5,0	10,0	—	—	—	++		
			7 th »	1	1,0	10,0	10,0	—	—	—	+		
			7 th day 20 hrs. †	—	—	—	—	—	—	—	+	+++	† Died from crotalic poisoning

In 7 out of a group of 8 animals injected with crotalic venom, we were able to reproduce the picture of hemoglobinuric nephrosis demonstrated by the presence of hemoglobin casts or its derivatives in histological sections of kidney, or by hemoglobinuria demonstrated by a positive benzidine test.

DISCUSSION

The histological lesions in the uriniferous tubules of dogs and those of man, described by AMORIM & MELLO (3, 4) in cases of autopsies of persons bitten by rattlesnake, *C. t. terrificus* may be superposed exactly. They are identical and at times present histological pictures of the kidney which in no way differ one from the other as can be seen, comparing fig. 1 of the human kidney (case N.º 2) previously studied by us (3, 4) and fig. 2 of kidney of dog N.º 10.

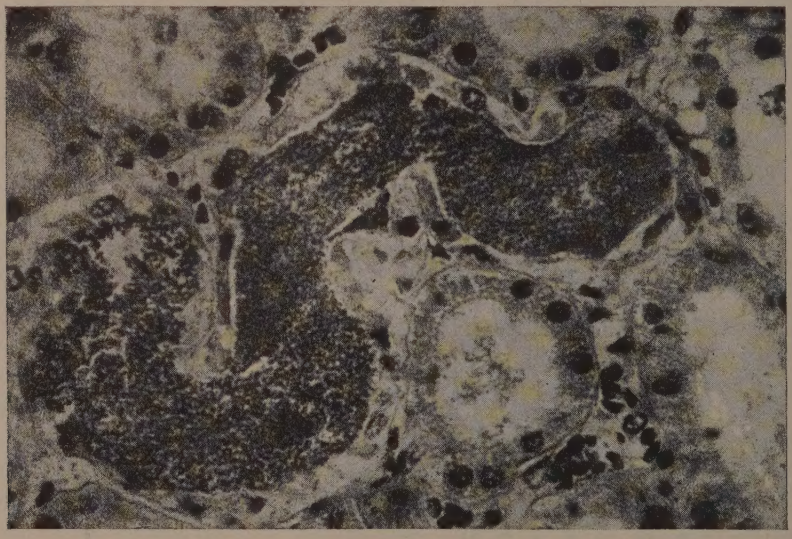


Fig. 1 — Case 2. Human kidney. Distal convoluted tubule with vacuolized cells already partially disappeared (pyknosis and karyorrhexis), entirely filled by granular hemoglobin cast. Surrounding it are convoluted proximal tubules with brush border still perceptible. Hemoglobin and eosin stain. X 495.

Two synergic factors are necessary in experimental reproduction of hemoglobinuric nephrosis: one nephrotoxic and the other hemolytic (1, 2). Our experiments suggest that the venom of *C. t. terrificus* simultaneously contains a nephrotoxic factor which produces a more serious lesion of the renal parenchyma at the level of the intermediate segment of the nephron and of the boundary zone of the kidney, and a hemolytic factor demonstrable by hemoglobinuria or by the presence of hemoglobin casts or their derivatives in the interior of uriniferous tubules in histological sections of the kidney.

More detailed investigation is required as to which of the components of the venom of *Crotalus t. terrificus* are responsible for the nephrotoxic and the hemolytic effect in the dog. This would permit an experimental study of the

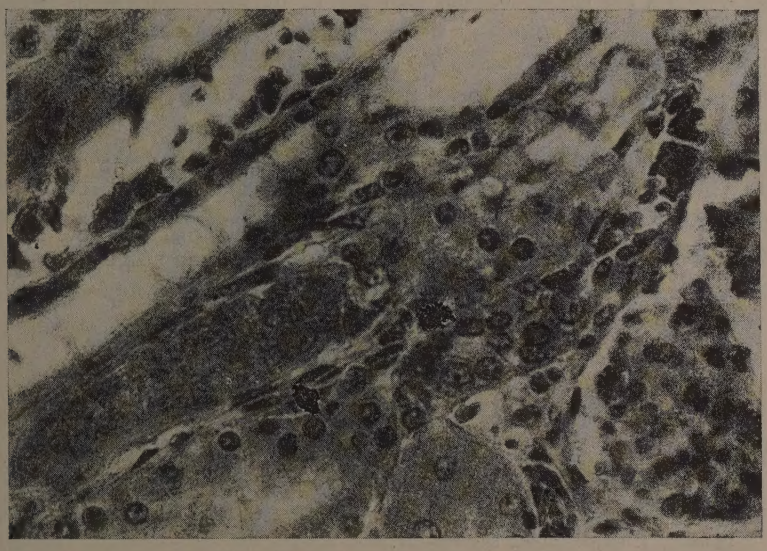


Fig. 2 — Dog. n.º 10. Ascending and descending limbs of Henle's loop near the boundary zone of the kidney. Capillaries filled with blood cells. Note section of a glomerulus. A descending segment of Henle's loop is filled with a granular cast of hemoglobin. Hematoxylin and eosin stain. X 595.

conditions under which hemoglobinuric nephrosis develops, which would be of great interest in pathology and in the investigation of rattlesnake (*C. t. terrificus*) poisoning.

SUMMARY

The venom of *Crotalus terrificus terrificus* injected subcutaneously in 8 dogs whose weight from 6 to 14 kg in quantities from 0,5 to 2,0 mg of dry poison per kg of body weight, induced hemoglobinuric nephrosis or nephrosis of the intermediate nephron in 7 out of 8 dogs as demonstrable by the presence of hemoglobin casts or their derivatives in the interior of uriniferous tubules and by hemoglobinuria. Hemoglobin casts are more numerous in boundary and medullary zones of kidney. No hematuria was found in any animal, and no blood cells were found in uriniferous tubules in histological sections of kidney. Histological lesions of uriniferous tubules of a degenerative and necrobiotic nature are more serious in the so-called intermediate segment of the nephron.

Thus, the venom of *Crotalus t. terrificus* would simultaneously produce a hemolytic and a nephrotoxic effect, prescinding from any other coadjutant and by itself be capable of inducing hemoglobinuric nephrosis in the dog.

RESUMO

O veneno da cascavel (*C. t. terrificus*) injetado por via subcutânea, na quantidade de 0,5 a 2,0 mg de veneno sêco por kg de pêso corporal induziu em 7 cães de um grupo de 8 animais, a nefrose hemoglobinúrica também denominada por nefrose do nefron intermediário, evidenciada pela presença de cilindros de hemoglobina ou de seus derivados no interior dos túbulos uriníferos ou pela hemoglobinúria. Os cilindros de hemoglobina são mais numerosos na zona limitante e medular do rim. As lesões histológicas dos túbulos uriníferos de natureza degenerativa e necrobiótica são mais graves, no chamado segmento intermediário do nefrônio.

Assim, o veneno crotálico possui, simultâneamente, um efeito hemolítico e nefrotóxico e por si só é capaz de produzir a nefrose hemoglobinúrica no cão, prescidindo de qualquer outro agente coadjuvante para isso.

REFERENCES

1. Mallory, T. B., 1947, Hemoglobinuric nephrosis in traumatic shock. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 17: 427-443.
2. Yuile, C. L., Gold, M. A. & Hinds, E. G., 1945, Hemoglobin precipitation in renal tubules. *J. Exper. Med.*, 82: 361-374.
3. Amorim, M. F. & Mello, R. F., 1954, Intermediate nephron nephrosis from snake poisoning in man. *Amer. J. Pathol.*, 30: 479-499.
4. Amorim, M. F. & Mello, R. F., 1952, Nefrose do nefron intermediário no envenenamento crotálico humano. *Mem. Inst. Butantan*, 24: 281-316.
5. Lucké, B., 1946, Lower nephron nephrosis. *Mil. Surg.*, 99: 371-396.
6. Costa, A. C. & Chaves, P. R., 1944, *Tratado Elementar de Histologia e Anatomia Microscopica*. 3 ed., Livraria Luso Espanhola. Lisbôa. (cf. vol. 2: 298-304).
7. Policard, A., 1960, *Precis d'Histologie Physiologique*. 5 éd., G. Doin & Cie., Paris, (cf. pp. 530-554).
8. Policard, A., 1908, *Le Tube Urinaire des Mammifères*. Masson & Cie, Paris. (cf. pp. 307-568).
9. Hawk, P. B. & Bergeim, O., 1947, *Practical Physiological Chemistry*. 11th ed., Blakiston Co., Philadelphia, (cf. pp. 437-438).
10. Roulet, F., 1948, *Methoden der Pathologischen Histologie*. Wien-Springer-Verlag. (cf. pp. 242-243).
11. Lepehne, G., 1919, Zerfall der roten Blutkörperchen beim ikterus infektiosus (Weil). *Beitr. Pathol. Anat. allg. Pathol.*, 65: 163-226.
12. Slotta, K., 1955, Chemistry and Biochemistry of Snake Venoms. Progress in the Chemistry of Organic Products. Wien-Springer-Verlag (cf. 12: 406-465).

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 365-373
Dezembro, 1960 – Rio de Janeiro, GB

BIOPHYSICAL GENETICS. V. TWO DIMENSIONAL PAPER CHROMATOGRAPHIC STUDY OF "DROSOPHILA PAULISTORUM" CLUSTER OF "SPECIES IN STATU NASCENDI" AND THE "BIOCHEMICAL HETEROSIS" OF THEIR HYBRIDS[1]

A. R. CORDEIRO
Instituto de Ciências Naturais, Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul

(With one text-figure)

The recent discovery of DOBZHANSKY & SPASSKY (1959) that *D. paulistorum* constitutes a complex collection of sub-species or *species in statu nascendi* is of great interest to the study of speciation.

The *D. willistoni* cryptic group includes *D. tropicalis, D. equinoxialis,* the recently described *D. insularis* (DOBZHANSKY et al., 1957), and *D. paulistorum* complex.

DOBZHANSKY & SPASSKY (1959) showed that the *D. paulistorum* complex constitutes in nature forms with varying degree of isolation, unified by bridges of intercrossing geographic races. This open the possibility to study sterile and fertile F_1 hybrids individuals by chromatographic methods.

On other hand VETUKHIV's (1954) results indicate that *D. paulistorum* interracial F_1 hybrids exhibit increased viability. For this reason a chromatographic study of fluorescent material is also valuable due to the important biological role of these substances (see reviews of HADORN, 1956 and 1958).

In the present paper we report the most significant results of an extensive paper partition chromatographic analysis of males and females of 14 different strains of the *D. paulistorum* complex and the F_1 hybrids obtained by intercrossing 10 of them in 11 combinations.

Acknowledgments – This work was supported by grants from the Rockefeller Foundation and the National Research Council of Brazil (C.N.Pq.). The author is grateful to Lic. Helga Winge Cordeiro and Miss N.B. Morales help; for the suggestions of the Chem. Eng. F. Lewgoy and Eng. C.V. Tondo; for the criticism of Prof. E. Hadorn and Prof. K. H. Mitchell, and to Prof. Th. Dobzhansky for the generous offer of the strains studied, kindly brougth to our Department by Miss. Ellen Winge. Dr. Hugh S. Forrest very kindly gave me samples of pure pteridins for co-chromatographic identifications.

[1] Received for publication September 26, 1960.

MATERIAL AND METHODS

The strains here studied have been generously provided to us by Prof. Dobzhansky. Informations about the distribution and results of intercrossing are given by DOBZHANSKY & SPASSKY (1959). The chromatographed races or subspecies came from Honduras; El Salvador; Panama; Trinidad; Columbia; Santa Marta, Bucaramanga, Llanos 1 and 186; Peru: Tarapoto and Tingo Maria; Bolivia: Coroico; and from Brazil: Içana, Belem and Angra dos Reis.

The chromatographic technique used by HADORN & MITCHELL (1951), BUZZATI-TRAVERSO (1953) and FOX (1956) was followed for the most part, but two-dimensional descending chromatography, with 47 x 46 cm Whatman n.º 1 paper was used. Twelve decapitated bodies of males or females, aged 14 days, were smashed directly on the paper, after being quickly rinsed with 90% ethanol and boiled in distilled water for one minute. The first solvent was: 1 part of *n*-propanol to 2 parts of 1% ammonia; the second: the upper phase of *n*-Butanol acetic-acid-water (4:1:5). The development in the first solvent lasted 18 hours and in the second 6 to 7 hours at 22 ± 0,5ºC. After drying in a forced-air oven (50ºC) the chromatograms were observed with the aid of a 3650 Å U.V. light and the fluorescent spots were delineated with pencil. The intensity of fluorescence was scored according a visual scale in four cathegories: strong, medium, weak and very weak. This measuring is arbitrary, but we have not attempted to establish racial distinction on the basis of small differences. Only easily perceptible differences were used.

RESULTS

THE BASIC PATTERN OF DROSOPHILA PAULISTORUM

The total number of spots, observed in all 14 geographic strains of *D. paulistorum* studied is 15 for the males and 10 for the females. To establish these characteristics 744 males and an identical number of females have been studied in 62 chromatograms for each sex.

A schematical representation of basic chromatograms from males and females is given in fig. 1.

The spots, *2m, 4m* and *5m* of and *3f* and *5f* ♀ ♀ are due to *isoxanthopterin.* Males contains always strong *4m,* the zones *2m* vary between strong to medium and the *5m* gives very weak to strong intensities. To score the intensity of isoxanthopterin an average of its strength in spots (*2m* + *4m* + *5m* and *3f* + *5f)* was used.

The *sepiapterin* was identified by co-chromatography as being the *7m* yellow spot wich is generally of medium strength. This substance is apparently absent from chromatograms of females.

The *deoxy analoge* of sepiapterin (according to FORREST, HATFIELD & VAN BAALEN, 1959) is identified here with the *11m* spot by the Rf and fluorescence color.

The spot *10m,* probably identical to *10f,* corresponds to the *2-amino-4 hydroxy-6-carboxy-pteridin* which is a photochemical product from sepiapteridine, biopterin or from drospterines.

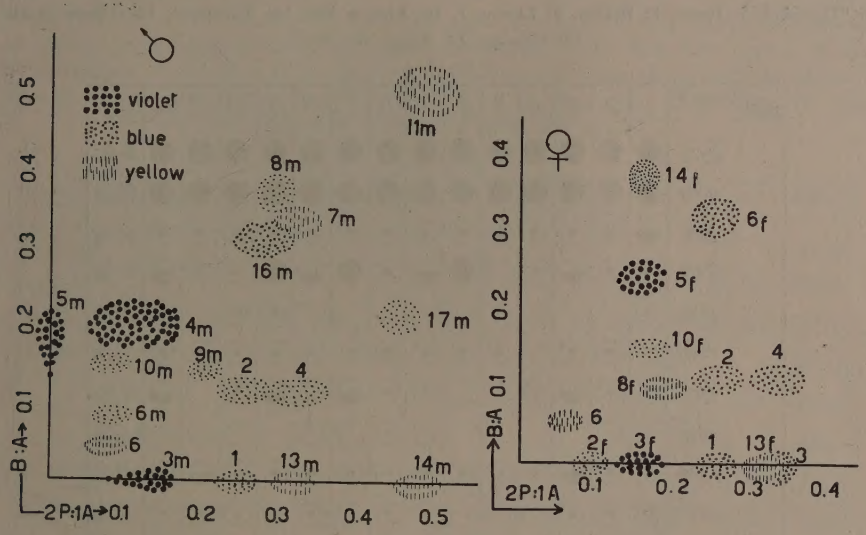


Fig. 1 — Basic chromatographic pattern of *Drosophila paulistorum,* fluorescent material.

It is probable that the *biopterin* produces the *16m* as the main spot which is now identified with the 6f (♀ ♀).

The spot *8m* is tentatively identified with the *2-amino-4-hydroxy-pteridine,* and the *6,* ♂ and ♀, as a *flavine mononucleotide* both by co-chromatography.

THE CHROMATOGRAPHIC PATTERNS OF RACES AND SUBSPECIES

According to DOBZHANSKY & SPASSKY (1959) *D. paulistorum* can be subdivided in six groups: a) *Centro-American* group, Guatemala to Costa Rica (numbers 1 and 2 on Tables 1 and 2); b) *Amazonian group,* Panama to Pará (numbers 5 to 8, Tables 1 and 2); c) *Andean-South-Brazilian* group: Llanos of Columbia, Andes of Equador, Peru and Bolivia, Southern Brazil (numbers 13 and 14, Tables 1 and 2); d) *the Orinocan* group, single strain from Georgetown, British Guiana; (not available for chromatographic study); f) *transitional* group; Columbia (numbers 3 and 4, Table 1 and 2).

The *transitional* group includes several forms, fertile *inter* se, except the case of Palmira and Buenaventura (also not available for chromatographic

study). This group produces fertile descendents with all others, except the *Guiana* group, which can be fertilized by the Andean group.

TABLE 1

Occurrence and relative intensity of fluorescent spots in two-dimensional paper chromatograms of Drosophila paulistorum **subspecies. In each chromatogram 12 decapitated** males **have been applied.** Localities **— 1: Honduras, 2: San Salvador, 3: Santa Marta, 4: Bucaramanga, 5: Panamá, 6: Trinidad, 7: Içana, 8: Belém, 9: Llanos 1, 10: Llanos 186, 11: Tarapoto, 12: Tingo Maria, 13: Coroico, 14: Angra dos Reis.**

Strains N° / Spots	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Freq.
2m	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	14/14
4m	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	14/14
5m	◒	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	14/14
7m	⊙	⊙	◒	⊙	○	●	◒	⊙	●	◒	●	⊙	⊙	◒	14/14
9m	⊙										⊙	⊙			3/14
10m		⊙	⊙		⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	12/14
11m	⊙	⊙	◒	⊙	○	○	⊙	⊙	◒	○	◒	⊙	○	◒	14/14
12m	○	○				○	○	○	○	○		○	○		9/14
13m	⊙	⊙	◒	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	◒	◒	14/14
14m	⊙	⊙	⊙	○	○	○	⊙	⊙	○	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	14/14
16m	●	◒	●	●	○	○	⊙	◒	●	◒	◒	◒	◒	◒	14/14
17m												⊙			1/14
2													⊙	◒	2/14
4	⊙	◒	⊙	⊙	⊙	⊙	◒	◒	◒	◒	●	◒	⊙	◒	14/14
6	◒	◒	●	◒	⊙	⊙	●	●	●	●	⊙	●	⊙	●	14/14
Spots	12	12	11	10	11	12	12	12	12	12	12	14	13	12	167/14
Chromat.	4	4	4	6	4	8	4	4	4	4	4	4	4	4	62
Total Indiv.	48	48	48	72	48	96	48	48	48	48	48	48	48	48	744

Fluorescence: ● = Strong, ◒ = Medium, ⊙ = Weak, ○ = Very weak.

Some of these groups have as chromatographic characteristics the higher iso-anthopterin content of females from the *Andean-South-Brazilian* group in comparison with the others (Table 2, numbers 11, 12, 13, 14, spots *3f* and *5f*); and the apparently lower intensity of biopterin, both in males (*16m*) and females (*6f*), of the *Amazonian* group (Tables 1 and 2, numbers 5, 6, 7, 8).

Information obtained until now and summarized in Table 1 and 2 suggests that the semi-isolated group of *D. paulistorum* are not completely distinguishable.

On other hand several qualitative and specially quantitative differences have been detected among the 14 strains studied. As an example the Santa Marta (n. 3) strain can be distinguished by: stronger content of *sepiapterin* (7m) and its *deoxy-analoge* (*11 and 14m*) of *stronger 13m*, and of *flavine mononucleotide*, probably spot *6*, all stronger than Bucaramanga (n. 4). Both races are *transitional*.

TABLE 2

Occurrence and relative intensity of fluorescent spots in two-dimensional paper chromatograms of Drosophila paulistorum subspecies. **Twelve decapitated females have been** applied, **in each chromatogram**. Localities — **1: Honduras, 2: San Salvador, 3: Santa Marta, 4: Bucaramanga, 5: Panamá, 6: Trinidad, 7: Içana, 8: Belém, 9: Llanos 1, 10: Llanos 186, 11: Tarapoto, 12: Tingo Maria, 13: Coroico, 14: Angra dos Reis.**

	STRAIN N° / SPOTS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	FREQ
	2f		⊙													1/14
	3f	○					⊙	○	○	○	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	10/14
isox.	5f	○	⊙	○	◒	?	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	◒	◒	●	◒	13/14
biopt.	6f			○				○		○		⊙	◒			5/14
	10f			○	⊙					○		⊙	⊙	⊙	⊙	7/14
	14f				○											1/14
	1			○									⊙			2/14
	2				⊙								◒		⊙	3/14
	4				⊙							⊙	◒	⊙	⊙	5/14
	6	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	◒	14/14
Total of SPOTS		3	3	5	6	1	3	4	3	5	3	6	8	5	6	61/14
Total of CHROMAT		4	4	4	6	4	8	4	4	4	4	4	4	4	4	62
Total of INDIV		48	48	48	72	48	96	48	48	48	48	48	48	48	48	744

Fluorescence: ● = Strong, ⊙ = Medium, ◒ = Weak, ○ = Very weak.

Some rare spots are useful to distinguished several geographic strains, like the *9m* of the Honduras, Tarapoto and Tingo Maria; the *17m* of the Tingo Maria; the *2* in females from Bucaramanga and Tingo Maria, males from Coroico, and males and females from Angra dos Reis. These differences need not to be qualitative. The material that yields weak or very weak spots in some races, may be present in others below the detection limit.

THE CHROMATOGRAPHIC PATTERNS OF THE HYBRIDS

Greater amount of fluorescent material among males reduces the interest in a detailed presentation of the chromatograms of females.

A general observation can be made from Tables 1 and 3. The chromatograms, from F_1, hybrid males are more homogeneous in regard to the number of spots and their intensities than the parental ones. A simple variance test

TABLE 3

Occurrence and relative intensity of fluorescent spots in two-dimensional paper chromatograms of F_1 hybrids between subspecies of Drosophila paulistorum. **Twelve decapitated** males **have been applied in each chromatogram**. Localities — **1: Honduras, 2: San Salvador, 3: Santa Marta, 4: Bucaramanga, 5: Panamá, 6: Trinidad, 7: Içana, 8: Belém, 9: Llanos 1, 10: Llanos 186, 11: Tarapoto, 12: Tingo Maria, 13: Coroico, 14: Angra dos Reis.**

♂♀ / SPOTS	7/5 f	6/5 f	12/8 f	7/8 f	6/8 f	5/8 f	1/2 f	13/2 s	12/2 s	14/2 s	9/2 s	Freq.
isox. 2m	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	◒	11/11
isox. 4m	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	◒	11/11
isox. 5m	●	●	◒	◒	⊙	●	◒	●	◒	●	●	11/11
sepiapt. 7m	◒	◒	⊙	⊙	◒	◒	◒	◒	◒	◒	⊙	11/11
8m	⊙							⊙		⊙		3/11
9m	○											1/11
10m							⊙		⊙	⊙		3/11
sepiapt. dioxy deriv. 11m	◒	◒	◒	◒	●	◒	◒	⊙	⊙	◒		10/11
12m	⊙	⊙	⊙	○	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	11/11
13m	◒	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	◒	⊙	⊙	11/11
14m	⊙	⊙	○	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙		10/11
biopt. 16m	●	●	●	●	●	●	●	◒	◒	◒	◒	11/11
17m									⊙			1/11
2												0/11
4	◒	◒	⊙	⊙	⊙	⊙	◒	◒	◒	◒	⊙	11/11
6	●	●	⊙	⊙	●	●	●	●	●	●	◒	11/11
Total of Spots	13	11	11	11	11	11	12	12	13	13	9	127/11
Total Chromat.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	44
Total of Indiv.	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	528

Fluorescence: ● = Strong, ◒ = Medium, ⊙ = Weak, ○ = Very Weak

showed a significant difference between the heterogeneity of spot frequencies of Table 1 and the relative homogeneity of the data in Table 3.

Another important observation that might be pointed out: is, that there is a general increase of intensity of *isoxanthopterin,* the *sepiapterin,* and its *deoxy analoge (11 m* = F_1 7), and the *biopterin*. The last substance appears

strongly among the fertile crosses (f) and with medium strength in sterile hybrids. This observation deserves further investigation.

The spot *8m* (2-amino-4-hydroxy pteridine) that occurs in *D. willistoni* is apparently "new" in the *paulistorum* hybrids, since it is not observed in the parental strains (Tables 1 and 3). Nevertheless, its presence in *paulistorum* hybrids may be the results of the general increase in free pteridin content. The *10m* spot (2-amino-4 hydroxy-6-carboxy pteridine) is apparently the only that decrease in the hybrids.

DISCUSSION

The pleiotropic manifestation of mutants, detected by chromatographic methods, as HADORN (1954, 1956) clearly showed is probably part of the complex picture of adaptation process. The study of pteridins and other fluorescent material of races and subspecies of *D. paulistorum* supports DOBZHANSKY & SPASSKY (1959) hypothesis, that this array of forms belongs to a single species.

The heterogeneity of chromatographic patterns exhibited by *D. paulistorum's* geographic strains is smaller than that among 14 strains of *D. willistoni,* observed by CORDEIRO, LEWGOY & TONDO (1959).

A considerable amount of gene flow probably preserves this relative biochemical uniformity.

The larger number of fluorescent spots in *Drosophila willistoni* (males 25 and females 16, in comparison with the *D. paulistorum* males, 15 and females 10) may be regarded as a result of a higher genetic polymorphism of *D. willistoni*. *D. willistoni* exploits a richer variety of ecologic niches and develops succesful adaptation in a much larger geographic area than the *D. paulistorum,* according to the important series of studies undertaken by CUNHA & DOBZHANSKY (1954), and recently reviewed by CUNHA *et al.* (1959). There are indications that the more specialized cryptic species: *D. tropicalis, D. equinoxialis* and *D. insularis* show and even lower degree of pteridin-content (CORDEIRO 1959). The greater amount of pterins in *D. melanogaster intercrossed* strains than the *inbred* ones, has been demonstrated by HOENIGSBERG & CASTIGLIONI (1958). Similarly, in many substances the homozygotes for the II and the III chromosomes of *D. willistoni* showed a lower amount than did the F_1 of intercrossed II and III chromosomal strains (LEWGOY & CORDEIRO, 1958).

The phenomena of higher concentrations in F_1 hybrids of several forms of *D. paulistorum* specially affect the *isoxanthopterin,* the *biopterin,* the *sepiapterin* and its *deoxy analog*. Comparable results have been obtained by CORDEIRO, LEWGOY & TONDO (1959) with hybrids of *D. willistoni* races. These findings support the observation of RASMUSSEN & SCOSSIROLI (1954, and personal comunications) about interspecific hybrids.

On the other hand VETUKHIV (1954) observed an increase in viability among the interracial hybrids of *D. paulistorum*.

Consequently the increase in pteridin and other fluorescent material observed in hybrids is at least not incompatible with the development of heterosis. We may recall that the *folic acid* a complex pterin, is an absolute metabolite requirement of *Drosophila* (HINTON, 1952, 1959). It is also known that some pterins are growth promoting and inhibiting substances in many organisms (BELLAIRS, 1954) this was demonstrated by HINTON (1952) also for *Drosophila*. Biopterin was shown to be a growth factor for the trypanosomid *Crithidia fasciculata* (NATHAN & COEPERTHWAIDE, 1955) and for the queen bee development but was not found in food or larvae of worker bees (BUTENANDT & REMBOLD, 1958). The sterile F_1 hybrids of some *D. paulistorum species in statu nascendi* apparently shows a lower content of *biopterin* than the fertile ones what is more one suggestion that this substance may have a role in the fertility of insects.

The stronger isolation among *D. paulistorum* geographic strains (differing from *D. willistoni),* is not followed by a pteridin's diversification. The isolation mechanism is consequently not paralleled by changes in the morphological and the chromatographic patterns studied here.

SUMMARY

The interesting group of semi-isolated forms of *D. paulistorum* and some of their hybrids discovered by DOBZHANSKY & SPASSKY (1959) was studied here with the aid of two dimensional paper chromatography. All forms present some qualitative or quantitative differences, but only few "groups" could be distinguished by this method. This relative homogeneity confirms the hypothesis of DOBZHANSKY & SPASSKY (1959) according to which *D. paulistorum* is a unified *cluster of species in statu nascendi*. *D. paulistorum* is less rich in pteridins and its geographic strains are more homogeneous than that of *D. willistoni*.

The great increase in pteridin content exhibited by the F_1 hybrids is compatible with the heterosis observed by VETUKHIV (1954). There is some indications that sterile F_1 hybrids have a lower content of *biopterin* than the fertile ones.

REFERENCES

BELLAIRS, R., 1954, The effects of folic acid antagonists on embryonic development. In *Ciba Found. Symp. on Chem.* and *Biol. of Pteridines*. Part 2: 356-365. J. & A. Churchill, Ltd., London.

BUTENANDT, A. & REMBOLD, H., 1958, Über den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene, II Isolierung von 2-Amino-4-hydroxy-6-(1-2-dihydroxy-propyl) pteridin *Z. Physiol. Chem.*, 311: 79-83.

BUZZATI-TRAVERSO, A. A., 1953, Paper chromatographic patterns of genetically different tissues: a contribution to the biochemical study of individuality. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 39: 376-391.

CORDEIRO, A. R., 1959, *Estudo cromatográfico de raças e espécies do grupo críptico da "Drosophila willistoni"*. 68 pp., Tese, Fac. Filos. U.R.G.S. Pôrto Alegre.

CORDEIRO, A. R., LEWGOY, F. & TONDO, C. V., 1959, Biophysical Genetics IV. Chromatographic patterns of *Drosophila willistoni* races, interracial hybrids and the heterosis phenomena. *Rev. Brasil. Biol.*, 20 (1): 69-78.

CUNHA, A. B. & DOBZHANSKY, TH., 1954, A further study of chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. *Evolution*, 7: 119-134.

CUNHA, A. B., DOBZHANSKY, TH., PAVLOVSKY, O. & SPASSKY, B., 1959, Genetics of natural populations XXVIII. Suplementary data on the chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. *Evolution*, 13: 389-404.

DOBZHANSKY, TH., EHRMAN, L. & PAVLOVSKY, O., 1957, *Drosophila insularis*, a new sibling species of the *willistoni* group. *Univ. Texas Genetics of Drosophila*, 5721: 39-47.

DOBZHANSKY, TH. & SPASSKY, B., 1959, *Drosophila paulistorum*, a cluster of species in statu nascendi. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 45:419-428.

FORREST, H., HATFIELD, D. & VAN BAALEN, C., 1959, Characterization of a second yellow compound from *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 183: 1269-1270.

FOX, A. S., 1956, Paper chromatographic studies of the effects of the Lozenge pseudo-alleles on free amino acids and peptides in *Drosophila melanogaster*. *Z. Vererbungslehre*, 87: 554-566.

HADORN, E., 1954, Approaches to the study of biochemical and developmental effects of mutations. *Proc. IX Int. Cong. Genetics. Supl. Carvol.* 6: 326-337.

HADORN, E., 1956, Patterns of biochemical and developmental pleiotropy. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 21: 363-373.

HADORN, E., 1958, Contribution to the physiological and biochemical genetics of pteridines and pigments in insects. *Proc. Xth. International Congress of Genetics*, 1: 337-354.

HADORN, E. & MITCHELL, H. K., 1951, Properties of mutants of *Drosophila melanogaster* and changes during development as revealed by paper chromatography. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 37: 650-665.

HINTON, T., 1952, A quantitative study of folic acid requirements and reversal of aminopterin inhibition in *Drosophila*. *Science*, 116: 708-710.

HINTON, T., 1959, Miscelaneous nutritional variations, environmental and genetic in *Drosophila*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 77: 366-372.

HOENIGSBERG, H. F. & CASTIGLIONI, M. C., 1958, Differences between inbred and outbred lines of *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 181: 1404.

LEWGOY, F. & CORDEIRO, A. R., 1958, Biophysical Genetics. II. Chromatographic analysis of *Drosophila willistoni* homo and heterozygous strains from natural populations. *Rev. Brasil. Biol.*, 18: 353-366.

NATHAN, H. A. & COWPERTHWAITE, J., 1955, Crithidia Factor — a new member of the folic acid group of vitamins. *J. Protozool.*, 2: 37-42.

RASMUSSEN, I. E. & SCOSSIROLI, R. E., 1954, L'ímpiego della cromatographia su carta nello studio di ibriri interspecifici in *Drosophila*. *Boll. Zool.*, 21: 329-338.

VETUKHIV, M., 1954, Integration of the genotype in local populations of three species of *Drosophila*. *Evolution*, 8: 241-251.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 375-379
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

"MELOIDOGYNE COFFEICOLA" SP. N., A PEST OF COFFEE TREES IN THE STATE OF PARANÁ, BRAZIL (Nematoda, Heteroderidae)[1]

LUIZ GONZAGA E. LORDELLO and ADIEL PAES LEME ZAMITH
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, S. Paulo

(With 10 text-figures)

The first record on nematodes attacking roots of coffee trees in Brazil was published by JOBERT in 1878. In 1887, GOELDI stated that the primary cause of a disease affecting coffee plantations at the then called Province of Rio de Janeiro was the nematode referred to by JOBERT. At that time, GOELDI described *Meloidogyne exigua* gen. n., sp. n. Since then, authors have made references to root-knot nematodes infecting coffee trees in several South American countries, and in the U.S.A., at the N.Y. Botanical Garden (CHITWOOD, 1949; LORDELLO, 1953; TAYLOR, DROPKIN & MARTIN, 1955; etc.).

In 1958, LORDELLO & ZAMITH (1958, 1958a) found *M. exigua* attacking decaying coffee plants grown in the Ribeirão Preto area, State of S. Paulo. As this species was a little known root-knot nematode, a paper dealing with its morphology was prepared (1958b). In 1960, the same writers added several new localities to the area of occurrence of *M. exigua* in S. Paulo.

ARRUDA, in 1960, published the first results of his experiments about the stunting effect of *M. exigua* on coffee seedlings raised in sheet wood containers, according to common practices in the State of S. Paulo.

In 1959, WHITEHEAD described a new root-knot nematode attacking arabica coffee in Kenya, Africa, namely *M. africana*.

Recently, the writers examined desfigured roots of coffee trees from the region of Terra Boa, Paraná, and found a new species of *Meloidogyne*, which is here described as *M. coffeicola* sp. n.

M. coffeicola is a very destructive parasite of *Coffea arabica* in the Terra Boa area, where the injured tree commonly dies. Actually, records on death of over 15,000 trees in a single plantation are known. So, *M. coffeicola* is much more serious a detriment to coffee cultivation than the old species *M. exigua*.

[1] Received for publication September 26, 1960.

Meloidogyne coffeicola sp. n.

Male — Body worm-like in shape, tapering to both extremities, more abruptly anteriorly. Head rather cupolate, well set off from neck, bearing one wide post labial annule. Cuticle strongly annulated, the striae being 3,0-4,6μ apart.

The lateral fields begin at the level of the middle of the unprotruded stylet and extend to tail. They are first made up of two lines, the resulting band being aerolated. A third middle line is found at about the latitude of the anterior portion of the oesophageal bulb. This line bifurcates at latitude of the isthmus and the fields continue to tail with four lines. As a rule, the transverse striae of cuticle cut only the outer bands of the fields (aerolation), but males showing aerolation in the three bands of the fields were found. At about the middle of the body, the fields are 10,7-13,8μ wide.

The twist of the male body was studied in several individuals, for which it was calculated to be 180 degrees.

Stylet strong, provided with ovoid knobs, not so pronounced as in species previously investigated. Middle bulb of oesophagus small, elongate, slightly set off from the oesophageal anterior portion. Dorsal gland a thick and long lobe overlaping the beginning of intestine. Intestinal cells filled with dark globular material, making accurate study of sexual organs difficult. Nerve ring encircling the isthmus a little behind the middle bulb. Excretory pore well defined, located from 130,0 to 150,0μ from the head end. The convoluted excretory canal may be followed for a rather great distance down the body.

All males studied showed only one well developed reflexed testis. Spicules arcuated; gubernaculum well defined; phasmids small, located in front of anus.

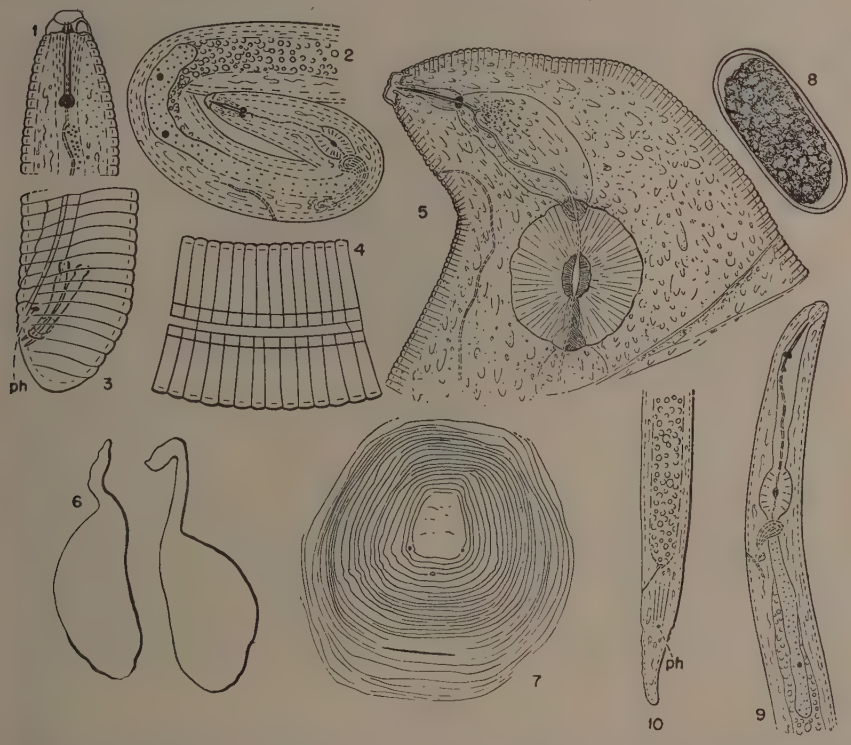
Measurements (in microns) — Length: 1.279,0-1.595,8; width: 38,3-44,4; stylet: 23,0-26,0; distance from the orifice of the dorsal gland to stylet knobs: 3,8-4,6; oesophagus middle bulb: 16,8-23,0 x 9,2-13,8; tail: 18,4-24,5; spicule: 20,0-29,0; gubernaculum: 6,0-9,2; a = 32,2-40,1; b = 8,6-14,7; c = 58,3-80,2.

Female — The elongated females were obtained from cavities found in the root tissues. They are long-necked, brownish in color, and show the head and distal portion of neck inserted into the central cylinder in a region filled with soft tissues. The rest of the body is in the cortical region. Stylet rather weak, slightly curved dorsally, provided with rounded knobs. The canal of the oesophagus presents strong walls from the beginning of the organ until it enters the middle bulb, where they become somewhat weak. The surrounding tissues of the oesophageal canal show a constriction at the level of the union with the middle bulb. This bulb is strong, almost spherical in some specimens.

Lateral fields not seen. Cuticle annulated. Excretory pore well defined, located at about the 13th annule from the head. The excretory duct may be followed for a considerable distance down the body.

Ovaries convoluted, filled with oocytes. Phasmids small, located postanally.

Perineal pattern very characteristic. Arch low, the striae in the dorsal sector being smooth to slightly wavy. Tail tip region rather wide, crossed by some faint striae and surrounded by concentric circles, which form a distinct tail tip pattern. The striae are closely spaced and usually very faint.



Meloidogyne coffeicola sp. n., male — Fig. 1: Head; fig. 2: anterior region; fig. 3: tail; fig. 4: lateral field at the middle of the body. *Meloidogyne coffeicola* sp. n., female — Fig. 5: Anterior region; fig. 6: form of body of mature females; fig. 7: perineal pattern; fig. 8: egg. *Meloidogyne coffeicola* sp. n., preparasitic larva — Fig. 9: Anterior region; fig. 10: tail (ph = phasmid).

Measurements (in microns) — Length: 992,0-1.348,0; width: 310,0-387,0; stylet: 15,3-17,6; distance from the opening of the dorsal gland to the base of stylet: 3,8-4,6; middle bulb: 33,6-41,3 x 32,0-42,8.

Preparasitic larva — The worm shaped body tapers to both extremities, more sharply posteriorly, ending in an elongated tail. Head slightly set off from neck, bearing one post labial annule. Stylet bulb weakly developed and rather compressed longitudinally.

Cuticle finely striated; lateral fields 4,6μ wide, made up of 4 lines; the outer bands of the fields are aerolated but larvae showing aerolation also in the middle band were studied.

Middle bulb of oesophagus ovoid; ocsophageal glands quite long; nerve ring encircling oesophageal isthmus just behind the middle bulb. Intestinal cells showing coagulated substances, forming round bodies, as described for other *Meloidogyne* species.

Phasmids small, located at the latitude of the middle of the tail.

Measurements (in microns) — Length: 336,6-423,8; width: 15,3-16,8; tail: 29,1-33,6; distance from the orifice of the dorsal oesophageal gland to the base of stylet: 3,1-3,8; stylet 9,2-10,7; middle bulb of oesophagus: 12,3-13,8 x 9,2; a = 22,0-25,2; b = 5,0-5,9; c = 9,5-13,9.

Eggs — The eggs are ellipsoidal, 92,0-101,0 µ long and 52,0-55,0µ wide. They are deposited within a dark gelatinous material, which seems to be much more consistent than in other species previously investigated by the writers.

Galls — Coffee roots atacked by *M. coffeicola* do not show typical galls, but thickenings are seen particularly on the finer roots.

Some females break through the cortical tissues and protrude from the surface, the eggs being laid outside the root.

Diagnosis — *M. coffeicola* is the 13th form of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887, to be described. It differs from the other species and subspecies in the pattern of the perineal region of the mature female.

The species most closely resembling *M. coffeicola* is *M. africana* Whitehead, 1959, from which it differs in having: a) lateral fields in the perineal region very poorly defined, in some individuals marked only by slight irregularities in the striae, but in most of the specimens quite difficult to locate; b) phasmids in preparasitic larvae located at the latitude of the middle of the tail; c) phasmids in males located in front of anus; d) lateral fields of the male entirely aerolated, as described.

Type host — *Coffea arabica* L. The trees found infected belong to the following varieties: "Mundo Novo", red Bourbon and "Caturra".

Type locality: Terra Boa, Paraná. *M. coffeicola* is probably native in that coffee producing region of Brazil, having invaded the coffee plantation that replaced the forest.

The type material is in the writers' collection, vials 117 and 117a.

REFERENCES

Arruda, H. V. de, 1960, Efeito depressivo de nematóides sôbre mudas de cafeeiro formadas em laminados. *Bragantia*, 19: XV-XVII, 1 fig.

Chitwood, B. G., 1949, "Root-knot nematodes" — Part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proc. helminth. Soc. Wash.*, 16 (2): 90-104, 6 pls.

Goeldi, E. A., 1887, Relatório sôbre a moléstia do cafeeiro na Província do Rio de Janeiro. *Arch. Mus. Nac.*, Rio de Janeiro, 8: 7-123 [year 1892].

JOBERT, C., 1878, Sur une maladie du caféier observée au Brésil. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 87: 941-946.

LORDELLO, L. G. E., 1953, *Contribuição ao conhecimento dos nematódeos do solo de algumas regiões do Estado de S. Paulo*, 75 pp., 5 pls. thesis, Esc. Sup. Agric. "Luis de Queiroz", Piracicaba.

LORDELLO, L. G. E. & ZAMITH, A. P. L., 1958, A note on nematodes attacking coffee trees in Brazil. *Plant Dis. Rep.*, 42 (2): 199, 1 fig.

LORDELLO, L. G. E. & ZAMITH, A. P. L., 1958a, Nematódeos atacando cafeeiro no Estado de S. Paulo. *Rev.Agric., Piracicaba*, 33 (1): 59-62.

LORDELLO, L. G. E. & ZAMITH, A. P. L., 1958b, On the morphology of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. *Proc. helminth. Soc. Was.*, 25 (2): 133-137, 2 pls.

LORDELLO, L. G. E. & ZAMITH, A. P. L., 1960, Incidência de nematódeos em algumas capturas de importância econômica. *Divulg. Agron.*, 1 (2) (in press).

TAYLOR, A. L., DROPKIN, V. H. & MARTIN, G. C., 1955, Perineal patterns of root-knot nematodes. *Phytopathology*, 45 (1): 26-34, 8 figs.

WHITEHEAD, A. G., 1959, The root-knot nematodes of East Africa. I. *Meloidogyne africana* n. sp., a parasite from arabica coffee (*Coffea arabica* L.). *Nematologica*, 4 (4): 272-278, 4 figs.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 381-389
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

ADDITIONAL DATA ON "PALPOMYIA" (Diptera, Ceratopogonidae)[1]

J. LANE
Faculdade de Higiene e Saúde Pública, São Paulo

(With one text-figure)

The study of a small collection from several Brazilian States has shown a surprising number of species and, among them, five new ones which are here described. We have compiled a key including all the species known to us at present, because many species have been described since 1939 when MACFIE prepared a key and 1947 when we added to it.

We believe that *Diplohelia* Kieffer, 1925 does not merit even a subgeneric status and should be synonymized with *Palpomyia*. *P. africans sentior* J. & M., 1931 has been changed from a subspecific to a specific status. We have included 37 species in this genus and believe that, in our Region, many more await discovery. A number of species has been described from a single specimen, but these show a sufficient number of characters justifying this procedure.

Five new species are described, the allotype of *P. umbella* Macfie, 1939, is selected and new localities for six species are given.

We take pleasure in thanking Dr. W. W. Wirth of the U. S. National Museum and the collectors of this material, who not only sent it to us, but permitted it to be retained in the entomological collection of the Faculdade de Higiene. The drawings were made by Mr. E. B. Ferraz. The numbers of registry are those of our collection. Measurements were made on dry specimen.

KEY FOR THE ADULTS OF "PALPOMYIA"

1. Femora unarmed ..... 2.
   Femora armed ..... 3.

---

[1] Received for publication October 21, 1960.
From the "Departamento de Parasitologia e Higiene Rural" da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de S. Paulo, Brasil (Dir.: Prof. Dr. J. O. Coutinho).

Diplohelea group

2.	Reddish yellow species; legs yellow but femora I and II brown	*albidiventris* Kieffer, 1917.
	Blackish species; legs blackish	*longicornis* Williston, 1896.

Palpomyia s. str. group

3.	All femora armed with spines	4.
	Some of the femora not armed	12.
4.	Thorax almost black	5.
	Thorax not so dark, amber-brown or then with at least the shoulder areas yellowish-brown	8.
5.	Hind legs with femora and tibiae largely yellowish-brown	6.
	Hind legs with femora and tibiae dark-brown	*umbella* Macfie, 1939.
6.	Hind legs with a dark brown zone at base of tibiae	7.
	Hind legs with tibiae yellowish-brown at base	*maculicrus* I. & M., 1931.
7.	Abdomen dark-brown	*crassicrus* Kieffer, 1917.
	Abdomen pale-brown	*versicolor* Macfie, 1939.
8.	With anterior spine on mesonotum	9.
	Without an anterior spine on mesonotum; fore femur with 3 spines	*spinosa* Lutz, 1914.
9.	With more than twenty spines on fore femur	10.
	With less than ten spines on fore femur; mesonotum with anterior spine	11.
10.	Fore femur with about thirty spines; scutellum yellowish	*aculeata* I. & M., 1931.
	Fore femur with about twenty spines; scutellum blackish	*barrettoi* Lane, 1947.
11.	Mesonotum mostly yellow anteriorly; haltere whitish	*lutzi* Lane, 1947.
	Mesonotum blackish-brown; haltere with white stem and blackish knob	*pampana* sp. n.
12.	Femora of fore and hind legs or only of fore legs armed	13.
	Femora of fore and mid legs armed but those of hind legs unarmed; mesonotum with anterior spine, yellowish brown; legs yellowish brown; hind femur and tibia yellowish brown except extreme tip of tibia	*melichroa* Macfie, 1939.
13.	Femora of fore and hind legs armed, but those of mid legs unarmed	14.
	Femora only of fore legs armed	17.
14.	Femora of fore legs armed with few spines (4 to 9); mesonotum without anterior tubercle ..	15.
	Femora of fore legs with more numerous spines (11 to 25); mesonotum with anterior tubercle	16.

15. Hind legs with femora and tibiae brown; tarsi with segment V armed with spines ..... *inermicollis* Kieffer, 1917.
Hind legs with femora entirely dark brown; tibiae brown; segment V of tarsi not armed .. *patagonica* I & M., 1931.
Hind femur with basal two thirds yellowish, the apex brown, its tibia yellow with dark base and apex; segment V of tarsi not armed .. *oliveirai* Lane, 1947.
16. Hind legs and abdomen reddish-yellow; segment V of tarsi not armed ..... *microchela* Kieffer, 1917.
Hind legs with femora and tibiae almost entirely dark brown; abdomen very dark brown; segment V of tarsi armed ..... *sentior* I. & M., 1931.
17. Hind legs with femora yellowish-brown; tibiae also mainly yellowish brown ..... 18.
Hind legs with femora partly or entirely dark brown ..... 24.
18. Thorax with yellowish of dark brown mesonotum ..... 19.
Thorax with black mesonotum ..... 22.
19. Mesonotal ground color yellowish; scutellum blackish ..... 20.
Mesonotum dark brown; scutellum brownish-yellow; fore femur with about 9 spines ..... *castanea* Macfie, 1939.
20. Fore femur with about 20 spines ..... 21.
Fore femur with only 3 spines; mesonotum yellow with a short anterior mesial black line and a blackish mark on prescutellar region contiguous to scutellum; pleura yellow except for a dark spot on the posterior pronotum ... *catarinensis* sp. n.
21. Mesonotum completely yellow as well as pleura *nigroscutellata* Lane, 1947.
Mesonotum with black marking of humeral and prescutellar regions ..... *carioca* sp. n.
22. Fore femur with 15 to 20 spines ..... 23.
Fore femur with only 3 spines ..... *nigroflava* Lane, 1947.
23. Tarsal segment V unarmed; abdomen light-brown ..... *paulistensis* Lane, 1947.
Tarsal segment V armed; abdomen dark-brown *chilensis* I. & M., 1931
24. Hind tibia marked with yellowish-brown .... 25.
Hind tibia entirely dark-brown or blackish .... 30.
25. Fore femur with 2 to 4 spines ..... 26.
Fore femur with 7 to 11 spines ..... 28.
26. Mesonotum with anterior spine ..... 27.
Mesonotum without anterior spine, yellowish anteriorly up to midlle, posteriorly blackish brown; fore femur with 2 spines; fore and mid femora yellow, hind one with basal half brown, the apex brown; tibiae brown at base, more so on apical one ..... *paraensis* sp. n.
27. Mesonotum blackish; fore femur with 4 spines; mid femur with a zone of infuscation at base; hind femur with basal half infuscated; tibiae

	with basal quarter and extreme apex dark brown, the rest yellow	*brasiliensis* Macfie, 1939.
	Mesonotum brownish; fore femur with 3 spines; mid one yellowish, apex dark; hind one yellowish on basal two thirds, gradually darkening to apex where it is blackish; fore and mid tibiae with apical ring, hind one brown on basal third, the apex blackish, the rest yellow	*wirthi* Lane, Forattini & Rabello, 1955.
28.	Thorax with anterior spine; tarsi of hind leg with segment III not longer than IV	29.
	Thorax without anterior spine; tarsi of hind legs with segment III twice as long as IV; fore femur with 10 or 11 spines	*calangana* Kieffer, 1917.
29.	Hind femur brown save the distal fifth and distal portion of tibia which are yellow	*columbiana* Kieffer, 1917.
	Hind femur brown, only basal fifth yellow; hind tibia with basal third dark brown, the rest yellow	*guarani* Lane, 1946.
30.	Hind legs with femora entirely dark-brown; thorax with anterior spine	31.
	Hind legs with femora not entirely dark-brown	33.
31.	Femora of fore legs armed with 3 or 4 spines; segment V of tarsi armed; only one spermatheca	32.
	Femora of fore legs armed with 6 to 10 spines; segment V of tarsi not armed; two or three spermathecae	*ubfuscula* I. & M., 1931.
32.	Abdomen with shining white pruinosity	*tamoioi* sp. n.
	Abdomen shining blackish	*sordidipes* Macfie, 1939.
33.	Fore femur with less than 10 spines	34.
	Fore femur with more than 12 spines	35.
34.	Fore femur with 2 or 3 spines; hind femur blackish, except basal sixth which is whitish; mesonotum without spine	*lacustris* Lane, Forattini & Rabello, 1955.
	Fore femur with 8 or 9 spines; hind femur more or less infuscated except at base and just before apex	*conifera* Macfie, 1939.
35.	Fore femur with 12 or 13 spines; hind femur with basal half yellowish-brown; mesonotum without anterior spine	*boliviensis* Kieffer, 1917.
	Fore femur with 16 to 25 spines; hind femur with basal quarter brown; mesonotum with anterior spine	*apricans* I. & M., 1931.

Note — Kieffer himself placed *Palpomyia tenuicrus* in the genus *Homohelea* (see Macfie, 1939, *Rev. ent.*, 10: 208).

Palpomyia carioca sp. n.

Length of body 3,5 mm; wing 3 mm.

Female — Head: Mouth parts and palpus yellowish; palpus with segs. I globose, II about 1,5 x as long as wide, III about the length of II, IV shorter,

V as long as III. Clypeus yellow. Antenna with yellowish scape and torus (flagellum missing). Vertex and occiput brown with sparse blackish hairs.

Thorax: Pronotum yellowish. Mesonotum with distinct anterior spine, the disk yellowish except for the following blackish-brown pattern: two large antero-lateral marks, one on each side, which, from the dorsocentral row of setae reach the margin and have a slender prolongation up to the root of wing; another mark on the prescutellar depression which encloses, in the middle, a yellowish elongated spot. Scutellum blackish-brown. Postnotum blackish-brown but lighter in the middle. Pleura yellow but sternopleura and mesepimeron blackish-brown.

Wing hyaline. Haltere whitish.

Legs yellow, slightly darker at femoro-tibial joints and on last tarsal segments. Fore femur swollen to about three times breadth of its tibia which is slightly curved; with about 20 blackish spines on the ventral surface. Anterior tarsal segments IV and V darkened, IV cordiform, V without batonnets. Mid legs elongated, the femur without spines, tarsi as in fore pair but V yellowish. Hind legs with femur slightly thickened, without spines, its tibia darkened at base. Tarsi as in fore pair. T. R. 3.

Abdomen yellowish but distal segments taking a gradual brownish tinge, the last one being light brown, covered with yellowish hairs.

Male — Unknown.

Type — Holotype female, registered under n. 14.278.

Type locality — BRAZIL, State of Rio de Janeiro, Itatiaia, Agulhas Negras, IV. 1947, S. J. Oliveira col.

Notes — The thoracic markings, yellowish abdomen and legs separate this species from *P. nigroscutellata* Lane, 1947. Both are high altitude species.

Palpomyia catarinensis sp. n.

Length of body 3,2 mm; wing 3 mm.

Female — Head: Mouth parts yellowish. Palpus yellowish, segment V a little shorter than IV, III the longest, II about half as long as III. Clypeus yellowish, shining, with sparse hairs. Antenna with yellow scape and torus; flagellum with segment I a little longer than II, II to VIII subequal, IX to last one longer. Occiput reddish-yellow.

Thorax: Mesonotum with very small anterior spine; yellowish-red except for a mesial black narrow stripe from the anterior margin to the middle of disk, and also a prescutellar black mark, nearly as broad as the mesonotum, covered with slender reddish hairs. Scutellum black with black hairs and a row of longer marginal hairs. Postnotum shining black. Pleura reddish-yellow.

Wing hyaline. Haltere with whitish stem and black knob.

Legs yellow, joints darkened as well as the basal fifth of hind tibia. Fore femur with 2/3 spines, a little thickened apically. T. R. 2, 3.

Abdomen with tergites shining blackish-brown, last segment yellowish. Cerci rounded and yellowish.

Male — Unknown.

Types — Holotype female; paratypes two females. Registered under ns. 14.329 to 14.331.

Type locality — BRAZIL, State of S. Catarina, Florianopolis, rio Tavares, XII.1957, J. Lane col.

Note — In one of the paratypes the scutellum is mostly yellowish and the prescutellar mark much smaller.

Palpomyia conifera Macfie, 1939

1939 *Palpomyia* Macfie, *Rev. ent.*, 10: 214; 1947 Lane, ibid., 18: 439.

Distribution — BRAZIL, Brasilia, D. F., V.1957, Barros & Albuquerque col. (2 females).

Palpomyia crassicrus Kieffer, 1917

1917 *Palpomyia* Kieffer, *An. Mus. Nat. Hung.*, 15: 320; 1939 Macfie, *Rev. ent.*, 10: 207.

Distribution — BRAZIL, State of S. Paulo, Salesópolis, Boracéa, I. 1948, L. Travassos F.º col. (one female).

Palpomyia longicornis (Williston, 1896)

1896 *Ceratopogon* Williston, *Trans. ent. Soc. London*, 280.

We took notes on the type material at the British Museum. In them we mention that MACFIE placed this species in the genus *Palpomyia*. The characters of the single female, which we have, correspond to the notes and descriptions.

Distribution —BRAZIL, Brasilia, D. F. (1.000 m alt.), V.1957, Barros & Albuquerque col.

Palpomyia nigroscutellata Lane, 1947

1947 *Palpomyia* Lane, *Rev. ent.*, 18: 444.

Distribution — BRAZIL, State of Rio de Janeiro, Terezópolis, Parque Nacional da Serra dos Orgãos, IV. 1943, P. Wygodzinsky col. (a single female).

Palpomyia pampana sp. n.

Length of body 3,5 mm; wing 3 mm.

Female — Head: mouth parts yellow. Palpus yellow, segment I globose, II and III about the same length, IV shorter than II, V as long as II. Clypeus

yellow with sparse hairs. Antenna with scape and torus yellowish-brown (flagellum missing). Occiput yellowish above, darker below.

Thorax: Mesonotum without anterior spine, blackish-brown, humeral region yellowish; covered with very short hairs. Scutellum slightly lighter in color than the mesonotum. Postnotum dull blackish. Pleura brown.

Wing hyaline. Haltere with white stem and blackish knob.

Legs: Coxae brown. Fore femur and tibia yellowish, joints darker, the femur with 7 ventral spines. Mid femur and tibia yellow with brown apex. Hind femur yellow with apical third brown its tibia yellow with apical sixth brown. Last three tarsal segments brown, the basal ones yellowish. T. R. 2, 3.

Abdomen blackish-brown, slightly shining. Cerci oblong, blackish.

Male — Unknown.

Type — Female, registered under n. 14.333.

Type locality — BRAZIL, State of Rio Grande do Sul, Arroio Grande, II.1957, S. Soares col.

Palpomyia paraensis sp. n.

Length of body 4,2 mm; wing 3,8 mm. Dry specimen.

Female — Mouth parts slightly brown. Palpus brownish. Segment I elongated, globose, II the thickest and longest, III shorter than IV. Clypeus yellowish, each side with four or five setae in a row. Antenna with scape and torus yellowish (flagellum missing). Occiput yellowish brown.

Thorax: Pronotum yellowish-brown. Mesonotum shining, without anterior spine, anteriorly yellowish-brown with indefinite dark-brown marking in a line over the dorsocentrals, another transversal one to margin which is broadly dark-brown, posterior half blackish-brown; covered with short yellowish hairs. Pleura shining brown; sternopleura yellowish-brown.

Wing hyaline. Haltere with white stem and blackish knob.

Legs: Coxae brown. Fore femur yellowish with two spines ventrally. Femoro-tibial joint darkened as well as base of tibia. Femur slightly thickened. Mid leg yellowish except basal third of tibia which is brown. Hind leg yellow but the basal half of femora and tibia brown as well as the femoro-tibial joint. Tarsi yellow except segment IV of fore and mid legs which is brown; V without batonnets. T. R. 2, 2.

Abdomen shining dark brown.

Male — Unknown.

Types — Holotype female, registered under n. 14.281.

Type locality — BRAZIL, State of Pará, Cachimbo air-strip (alt. 400 m) 14-21-IX-1955, L. Travassos & S. J. Oliveira col.

Note — The characters in the key separate this species from all others which have spines on the fore femur.

Palpomyia paulistensis Lane, 1947

1947 *Palpomyia* Lane, *Rev. ent.*, 18: 445.

Distribution — PANAMA, Cerro Campana, VI.1958, J. Lane col. (A female).

Palpomyia sordidipes Macfie, 1939

1939 *Palpomyia* Macfie, *Rev. ent.*, 10: 209.
1955 Lane, Forattini & Rabello, *Dusenia*, 6: 81.

Distribution — BRAZIL, State of Pará, Cachimbo Air-strip, IX.1955, S. J. Oliveira col. (Two females).

Palpomyia tamoioi sp. n.

Length of body 3 mm; wing 2,8 mm. Dry specimen.

Female — Head: Mouth parts brown. Palpus brown, segment I elongated, II about the length of I, not swollen, III shorter, IV about the length of II. Clypeus yellowish-brown. Antenna yellowish-brown (flagellum missing). Occiput shining blackish-brown.

Thorax shining blackish, with anterior spine. Mesonotum covered with very short yellowish hairs.

Wing hyaline. Haltere with yellowish stem and black knob.

Legs dark brown. Fore femur not much swollen and with two slender, long ventral spines. Fore and mid tarsi with three basal segments yellow, the rest blackish; V with batonnets. Hind tarsi with basal two segments yellow, the rest broken. T. R. 3.

Abdomen: Tergite I shining black; II shining black but white pruinose in the middle; III to VII covered with white pruinosity except for a round black, shining, nude area at each side anteriorly; VIII blackish. Segments IV to apex telescoping one in to the other and thus forming a gradually narrowing structure. Cerci yellow, rounded.

Male — Unknown.

Type — Holotype female. Registered under n. 14.282.

Type locality — BRAZIL, State of Rio de Janeiro, Itatiaia, Fazenda Penido, 29-III-1947, S. J. Oliveira col.

Note — This species is near *P. sordidipes* Macfie, 1939, but the peculiar shape and ornamentation of the abdomen separates it from this species as well as all others of this genus in the Neotropics.

Palpomyia umbella Macfie, 1939
(Fig. 1)

1939 *Palpomyia* Macfie, *Rev. ent.*, 10:208.

Four females and one male which is here selected as the allotype of this species.

Male — Antenna with long hairs forming whorl. Similar to female. The anterior spine was not seen probably due to the wrinkled condition of mesonotum. The extreme base of fore femur is also yellowish.

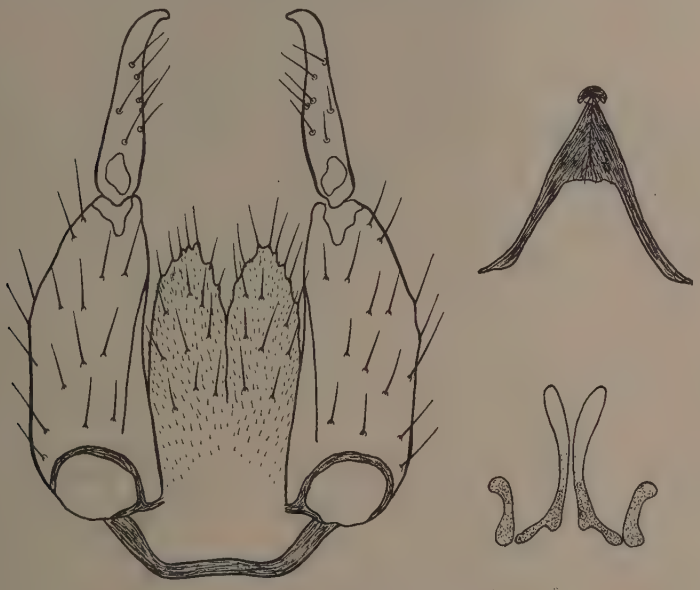


Fig. 1 — *Palpomyia umbella* Macfie, 1939, genitalia.

Genitalia: Basistyle more than two and a half times longer than wide, elongated, sparsely setose. Disistyle, slender, ending in a blunt point, setose in the middle, nearly two thirds the length of basistyle. Ninth tergite elongated with hairs and setae. Aedeagus with a capitiform upper process, elongated, the arms long. Parameres thickened to apex.

Distribution — BRAZIL, State of Rio de Janeiro, Itaguaí, Est. Rio-S. Paulo, km. 47, II-1945, P. Wygodzinsky col. (one female); State of Mato Grosso, Salobra, I-1955, Barros & Albuquerque col. and 28-VIII-1940, Com. Inst. Oswaldo Cruz col. (three females); State of Rio Grande do Sul, Arroio Grande, II-1957, S. Soares col. (male allotype).

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 391-396
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

ESTUDOS SÔBRE A COLORAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS INTESTINAIS. III. MÉTODOS RÁPIDOS QUE EMPREGAM DUPLA MORDENÇAGEM[1]

MAURO PEREIRA BARRETTO
Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, São Paulo

Continuando nossa série de investigações sôbre a coloração de protozoários intestinais, experimentamos diversos métodos rápidos de dupla mordençagem, isto é, em que o tratamento por um mordente é seguido da coloração em uma solução de laca metálica da hematoxilina. Fomos levados a experimentar êstes métodos estimulados pela afirmativa de COLE (1943), segundo a qual é possível conseguir-se com êles uma grande variedade de efeitos.

SOLUÇÕES EMPREGADAS

Nos métodos de coloração que analisaremos adiante empregamos os seguintes reagentes:

Alúmen de amônio de COLE *(1943)*:	
Sol. saturada de sulfato duplo de alumínio e amônio	50 ml
Ácido cítrico	5 g
Água destilada	50 ml
Cloreto férrico de COLE *(1943)*:	
Cloreto férrico	5,0 g
Água destilada	100,0 ml
Ácido cítrico	5,0 g
Alúmen de ferro de LANG *(1936)*:	
Sol. de sulfato duplo de ferro e amônio a 4%	500,0 ml
Ácido acético glacial C.P.	5,0 ml
Ácido sulfúrico C.P., p. esp. 1,84	0,6 ml
Hemalúmen de Mayer, seg. LANGERON *(1949)*:	
Água destilada	1000,0 ml
Hematoxilina cristalizada	1,0 g
Iodato de potássio	0,2 g

[1] Recebido para publicação a 16 de agôsto de 1960.
Trabalho do Departamento de Parasitologia (Diretor: Prof. M. P. Barretto), Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, S. Paulo.

Sulfato duplo de alumínio e potássio	50,0 g
Hidrato de cloral	50,0 g
Ácido cítrico	1,0 g

Os diversos componentes são dissolvidos em água à temperatura ordinária e a solução é deixada a esta temperatura ou a 37°C até aparecimento de côr violácea.

Hemalúmen de Lillie *(1942)*:

Hematoxilina cristalizada	5,0 g
Iodato de sódio	1,0 g
Sulfato duplo de alumínio e amônio	50,0 g
Água destilada	700,0 ml
Glicerina	300,0 ml
Ácido acético glacial	20,0 ml

Dissolve-se o alúmen de amônio, depois a hematoxilina e em seguida o iodato de sódio. Após a mudança de côr juntam-se a glicerina e o ácido acético.

Hemalúmen iodado de Cole *(1943)*:

Hematoxilina cristalizada	0,5 g
Água destilada	250,0 ml
Sol. de iodo a 1% em álcool	50,0 ml
Sol. saturada de sulfato duplo de alumínio e amônio	300,0 ml

Dissolve-se a hematoxilina na água quente, acrescenta-se a solução de iodo e de alúmen de amônio e leva-se a solução à fervura.

Hemalúmen permanganatado de Cole *(1943)*:

Hematoxilina cristalizada	1,0 g
Água destilada quente	200,0 ml
Sol. a 5% de permanganato de potássio	2,0-3,0 ml
Sol. saturada de sulfato duplo de alumínio e amônio	800,0 ml

COMBINAÇÕES EXPERIMENTADAS

Fazendo a pré-mordençagem com soluções de baixo poder oxidante (alúmen de amônio) empregamos soluções corantes amadurecidas, em particular as duas soluções de hemalúmen preconizadas por Cole (1943) como excelentes para a coloração de cortes. Usando na pré-mordençagem soluções de alto poder oxidante (cloreto férrico ou alúmen de ferro) empregamos soluções corantes recém-preparadas ou envelhecidas.

Em todos os casos, após a pré-mordençagem, os preparados foram lavados em água corrente durante 1-2 minutos. Como a coloração pelos diferentes hemalúmens não requer diferenciação, os preparados corados foram lavados em água corrente até a mudança de côr (viragem) e em seguida desidratados em álcool a 70 e 95, clarificados no creosoto e montados em bálsamo do Canadá, como descrevemos em trabalhos anteriores (Barretto & Zago, 1959, 1960).

1. *Alúmen de amônio e hemalúmen iodado de Cole.* Inicialmente experimentamos a pré-mordençagem e a coloração durante 10 minutos em cada solução, como aconselha Cole (1943). Havendo obtido resultados satisfatórios diminuimos os tempos de pré-mordençagem e coloração até 2 e 4 minutos respectivamente, obtendo idênticos resultados, particularmente quando, seguindo

indicações daquele autor, aumentamos o teor de hematoxilina do corante para 1,0 g por 1.000 ml.

Êste processo tem as vantagens seguintes: é rápido; as soluções empregadas são estáveis, particularmente a de hematoxilina que dá resultados consistentes até um ano após sua preparação; a densidade e o contraste de côr são satisfatórios para os trofozoítas e cistos, exceto para os cistos de *E. coli* que se coram irregularmente.

Mas os resultados não são superiores àqueles fornecidos pelo hemalúmen de Lillie (1942) e principalmente pela combinação do mordente de Lang (1936) com a hematoxilina ácida de Markey e col. (1943), de que já tratamos em trabalhos anteriores (Barretto & Zago, 1959, 1960).

2. *Alúmen de amônio e hemalúmen permanganatado de Cole.* Experimentamos êste método fazendo a pré-mordençagem e coloração durante 10 minutos, como aconselha Cole (1943). Tentamos também diminuir progressivamente o tempo gasto nestas duas etapas. Os resultados, em tôdas as tentativas, foram inferiores aos fornecidos pelo método anterior: o contraste de côr é menor, as estruturas citoplásmicas se coram mais e a coloração das estruturas nucleares é mais carregada e menos delicada. Isto dificulta não apenas a pesquisa de parasitas nas preparações como e principalmente torna mais difícil o diagnóstico diferencial entre os trofozoítas de *E. coli* e *E. histolytica* de um lado, entre os trofozoítas de *E. nana* e *I. bütschili* de outro e entre os cistos pequenos de *E. histolytica* e os de *E. nana*. Demais, a coloração dos cistos de *E. coli* é mais irregular.

3. *Alúmen de amônio e hemalúmen de Mayer*. Fazendo a pré-mordençagem durante 2 minutos, tempo êste considerado suficiente, como já vimos, experimentamos a coloração pelo hemalúmen durante 10 minutos. Os resultados foram comparáveis aos fornecidos pelo hemalúmen quando usado só. Tentando reduzir o tempo necessário para a coloração verificamos que os cistos particularmente os da *E. coli* se coravam com mais irregularidade.

4. *Alúmen de amônio e hemalúmen de Lillie*. Havendo verificado que o alúmen de amônio assegura uma pré-mordençagem satisfatória em 2 minutos, e sabendo por experiência anterior que o hemalúmen de Lillie dá colorações satisfatórias em 2 a 5 minutos, experimentamos a combinação dos dois.

Fazendo a pré-mordençagem em 2 minutos e a coloração em 2, 3 e 5 minutos obtivemos resultados comparáveis àqueles fornecidos pelo hemalúmen quando empregado só (Barretto & Zago, 1959). Como a introdução da pré-mordençagem complica e torna mais longo o método não a julgamos aconselhável.

5. *Cloreto férrico e hemalúmen de Mayer*. Experimentamos pré-mordençar os esfregaços com a solução de cloreto férrico durante 10 minutos, como aconselha Cole (1943) e depois corar pelo hemalúmen de Mayer durante o mesmo tempo. Os resultados assim obtidos foram semelhantes aos conseguidos só com o hemalúmen. Demais, verificamos que é possível reduzir a duração da pré-mordençagem até para 2 minutos; mas a redução do tempo de coloração

para menos de 10 minutos dá resultados pouco satisfatórios para os cistos, particularmente de *E. coli*.

O grande inconveniente desta combinação reside na alteração rápida da solução corante, quando em uso nas baterias de coloração. Embora as soluções, tanto do mordente quanto do hemalúmen sejam estáveis, traços de cloreto férrico não removidos pela lavagem (particularmente quando esta é rápida) determinam a formação de precipitados na solução da laca alumínica o que nos obriga a desprezá-la com freqüência. A lavagem demorada dos esfregaços após a pré-mordençagem diminui êste inconveniente, mas não o elimina totalmente, além de tornar o método mais moroso ainda.

O meio de contornar esta dificuldade seria fazer a coloração dos esfregaços lavados, deixando cair sôbre êles, com um conta-gotas, uma certa quantidade do corante que seria desprezada após ter agido. Mas isto encarece muito o método.

6. *Cloreto férrico e hemalúmen de Lillie*. Tentamos a pré-mordençagem durante 2 minutos (tempo suficiente, segundo vimos ao tratar do método anterior) e a coloração durante 2 e 5 minutos.

Os resultados não foram melhores que os obtidos só com o uso do hemalúmen de Lillie, e assim a introdução da pré-mordençagem seguida de lavagem só representa complicação desnecessária. Por outro lado, há aqui, como no método anterior, precipitação condicionada por traços de cloreto férrico, com todos os seus inconvenientes.

7. *Cloreto férrico e hemalúmen iodado de Cole*. Tentamos também a pré-mordençagem durante 2 minutos e a coloração em 10 e em 4 minutos. Os resultados não foram satisfatórios e isto, acrescentado aos inconvenientes do uso do cloreto férrico, nos leva a considerar má esta combinação.

8. *Alúmen de ferro e hemalúmen de Mayer*. Baseados na experiência anterior com o mordente de Lang (Barretto & Zago, 1960) experimentamos a pré-mordençagem durante 2 minutos e a coloração pelo hemalúmen de Mayer durante 2, 5 e 10 minutos. Com 5 minutos de coloração os resultados foram em geral um pouco melhores que os obtidos com a coloração só pelo hemalúmen durante 10 minutos. Assim a complicação representada pela introdução de duas etapas (pré-mordençagem e lavagem subsequente) é compensada pela economia de tempo.

9. *Alúmen de ferro e hemalúmen iodado de Cole*. Fazendo a pré-mordençagem durante 2 minutos e a coloração durante 2, 5 e 10 minutos obtivemos resultados inferiores àqueles fornecidos pelo método anterior: o contraste de côr é menor e a coloração das estruturas nucleares é mais intensa e grosseira.

10. *Alúmen de ferro e hemalúmen de Lillie*. Tentamos a pré-mordençagem durante 2 minutos pela solução de Lang e a coloração pelo hemalúmen de Lillie durante 2, 3 e 5 minutos.

Os resultados obtidos com a coloração durante 2-3 minutos foram os melhores que conseguimos com o uso de métodos que empregam dupla morden-

çagem. O contraste é bom e a densidade de côr é satisfatória. Cistos e trofozoítas se coram regularmente, exceto os cistos da *E. coli,* cuja coloração é irregular.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

De todos os métodos que requerem dupla mordençagem os que deram resultados mais satisfatórios foram a combinação da solução de alúmen de amônio de Cole (1943) com o da laca alumínica de Lillie (1942), e as combinações da solução de alúmen de ferro de Lang (1936) com o hemalúmen de Mayer (1901) e o hemalúmen de Lillie (1942). Esta última foi a que melhores resultados deu, permitindo boa densidade e contraste de côr. As soluções são estáveis e podem ser usadas durante vários dias nas baterias de coloração, sobretudo quando se faz uma boa lavagem dos esfregaços em água corrente, após a pré-mordençagem.

Os trofozoítas e cistos de protozoários se coram com regularidade, exceto os cistos de *E. coli,* cuja coloração é irregular. Aliás esta irregularidade observada em certo número de cistos, que varia de um indivíduo para outro, ocorre também com os melhores métodos de coloração, inclusive a hematoxilina férrica de Heidenheim, como já assinalara Wenrich (1941).

Mas os métodos de dupla mordençagem que estudamos, ainda que rápidos, não dão resultados tão satisfatórios quanto aqueles que conseguimos com a simples mordençagem na solução de Lang (1936) seguida de coloração pela hematoxilina ácida de Markey e col. (1943), resultados êstes relatados por nós em trabalho anterior (Barretto & Zago, 1960). Assim sendo, a introdução da pré-mordençagem, seguida de coloração por um hemalúmen, embora não constitua complicação, representada por mais uma etapa, não oferece vantagens, além de encarecer o processo. Demais, a solução ácida de hematoxilina é mais estável do que a dos hemalúmens, quando em uso, e sua concentração em corante é menor (0,1%), pelo menos do que no hemalúmen de Lillie (0,5%), que é aquêle que melhores resultados dá.

RESUMO

O autor experimentou diversos métodos rápidos de coloração para protozoários intestinais, métodos em que o tratamento por uma solução mordente é seguida de coloração em uma solução contendo uma laca férrica da hematoxilina. Empregou como mordentes as soluções de alúmen de amônio e de cloreto férrico de Cole (1943) e de alúmen de ferro de Lang (1936); como soluções corantes usou os hemalúmens ácidos de Mayer (1901) e de Lillie (1942) e os hemalúmens iodado e permanganatado de Cole (1943).

Testando diferentes combinações, verificou que os melhores resultados, no que diz respeito à rapidez, estabilidade das soluções, densidade de côr e contraste, foram fornecidos pela combinação do mordente de Lang com o hemalúmen de Lillie com as seguintes etapas: pré-mordençagem — 2 minutos; lavagem em

água corrente — 1 minuto; coloração — 2 ou 3 minutos; viragem em água corrente — 1 ou 2 minutos.

Mas êstes resultados foram inferiores àqueles que obteve com a mordençagem em solução de Lang e coloração na hematoxilina ácida de Markey e col. e já relatados em trabalho anterior (Barretto & Zago, 1960). Demais, êste último método, além de mais rápido, simples e eficiente, tem a vantagem de requerer solução muito menos concentrada de hematoxilina.

SUMMARY

STUDIES ON THE STAINING OF INTESTINAL PROTOZOA. III. RAPID METHODS USING DOUBLE MORDANTING

A careful evaluation of various rapid methods requiring double mordanting for the staining of intestinal protozoa was carried out. The following mordants were tested: ammonium alum (Cole, 1943), ferric chloride (Cole, 1943) and ferric ammonium alum (Lang, 1936). The following staining solutions were tested: acid hemalum (Mayer, 1901), hemalum (Lillie, 1942), iodine-ripened hematoxylin (Cole, 1943) and permanganate-ripened hematoxylin (Cole, 1943).

Ten different combinations were used. The best results, as far as rapidity, stability of solutions and good density and contrast of color are concerned, were obtained with a combination of Lang's mordant and Lillie's hemalum as follows: pre-mordanting — 2 minutes; washing in running water — 1 minute; staining — 2 or 3 minutes; washing in running water — 1 or 2 minutes. However, these results were not as good as those obtained with Lang's mordant and Markey, Culbertson, and Giordano's acid hematoxylin, as reported in a previous paper (Barretto & Zago, 1960). The later combination, besides being simpler and more efficient, requires a staining solution, with lower concentration of hematoxylin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barretto, M. P. & Zago F.º, H., 1959, Estudos sôbre a coloração de protozoários intestinais. I. Métodos rápidos que empregam mordentes e corantes em uma única solução. *Rev. Brasil. Biol.*, 19: 421-428.

Barretto, M. P. & Zago F.º, H., 1960, Estudos sôbre a coloração de protozoários intestinais. II. Métodos rápidos que empregam mordentes e corantes em soluções separadas. *Rev. Brasil. Biol.*, 20: 131-138.

Cole, E. C., 1943, Studies on hematoxylin stains. *Stain Technol.*, 18: 125-142.

Lang, A. G., 1936, A stable, high contrast mordant for hematoxylin staining. *Stain Technol.*, 11: 149-151.

Langeron, M., 1949, *Précis de microscopie*. Masson & Cie., Paris.

Lillie, R. D., 1942, An improved acid hemalum formula. *Stain Technol.*, 17: 89-90.

Markey, R. L., Culbertson, C. J. & Giordano, A. S., 1943, A rapid method for staining of intestinal parasites. *Amer. J. Clin. Patol.*, Techn. Sec., 7: 2-3.

Mayer, P., 1901, *Z. wiss. Mikr.*, 20: 410 (cit. por Lanceron, 1949).

Wenrich, D. H., 1941, The morphology of some protozoan parasites in relation to microtechnique. *J. Parasitol.*, 27: 1-28.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 397-402
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

UM GÊNERO E DUAS ESPÉCIES NOVAS DE LONGICÓRNEOS DO BRASIL (Col., Cerambycidae)[1]

DMYTRO ZAJCIW
Rio de Janeiro, Guanabara

(Com duas figuras no texto)

Eurymeropsis g. n.

Gen. *Eurymerus* affinis; palpi maxillares labialibus longiores; frons declivis, inter oculos sensim convexa, sulco medio laevi nitido instructa; tubercula antennifera deplanata, haud angulata; genae curtae; antennae corpore longiores, 11-articulatae, nem carinatae nem sulcatae, scapo obconico, minute haud aspere punctato; prothorax latitudine longior (♂) vel brevior (♀), ovatus, basi constrictus, dorso subplanus, haud punctatus, callis septem longitudinalibus instructus; elytra parallela, convexa, apice emarginata, singulatim bispinosa, disco minute denseque punctata, pilis uniformibus curtis decumbentibus hirsuta, maculis eburneis haud ornatis; prosterni processus manifeste angustus, mesosterni processus latior; femora antica supra arcuata; tibiae haud carinatae, tarsorum posticorum articulo 1.º, 2.º et 3.º simul sumptis longiore.

Palpos maxilares mais longos que os labiais; fronte em declive para a frente, levemente convexa entre os olhos, com um sulco mediano fino e brilhante; genas muito curtas; tubérculos anteníferos achatados, não angulosos no ápice. Antenas mais longas que o corpo, 11-articuladas, nem carenadas, nem sulcadas, pubescentes, com artículos 1.º-6.º na sua face inferior franjados de pêlos amarelo-dourados; escapo obcônico, finamente pontuado, não áspero.

Protórax um pouco mais longo que largo (♂) ou um pouco mais curto que sua largura (♀), oval, na base constrito, com lados arredondados; dorso subachatado, sem pontos distintos, com 7 calosidades alongadas longitudinais.

Élitros paralelos, cada um emarginado no ápice e com 2 espinhos; disco subconvexo, fina e densamente pontuado, com revestimento uniforme de pêlos curtos decumbentes, sem manchas ebúrneas.

Processo prosternal muito estreito, processo mesosternal mais ou menos mais largo que o precedente; ambos os processos com os lados bordado-elevados. Fêmures anteriores com o lado superior bem curvado; tíbias completamente sem

[1] Recebido para publicação a 21 de julho de 1960.
Com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

carenas longitudinais; tarsos posteriores com o 1.º artículo mais longo que o 2.º e o 3.º em conjunto. Último artículo abdominal truncado no ápice em ambos os sexos.

Espécie tipo: *Eurymeropsis fuscofasciata* sp. n.

Próximo ao *Eurymerus*, de que se distingue pelos escapos não áspero-pontuados, pelo protórax pouco estreitado para a frente e para trás, pouco achatado, com 7 calosidades longitudinais bem aparentes, pelos élitros convexos, sem manchas ebúrneas, pelo processo mesosternal muito mais largo em comparação com o processo prosternal, pelo último segmento abdominal truncado em ambos os sexos.

Eurymeropsis fuscofasciata sp. n.
(Fig. 1)

Testacea, opaca; vertice inter antennas, prothorace lateraliter et partim in disco, mesosterno, metaepisternis, elytris fasciis duabus fractis et macula subapicali, abdomineque brunneis. — Antennae ♂ corpore sesqui, ♀ perparum longiores; prothorax dorso callis septem longitudinalibus instructus; medio recto, lateralibus subarcuatis, duobus externis margine antica proximis; elytra figuris duabus communibus, litteram M simulantibus et macula subapicali brunneis ornata.

♂. Testáceo, opaco; faixa transversal, no vértice, entre os olhos, protórax nos lados e parcialmente no disco, mesosterno, metaepisternos, faixas quebradas e mancha subapical nos élitros e abdômen castanhos.

Palpos maxilares com o último artículo alongado, bem dilatado, obliquamente truncado no ápice; último artículo dos palpos labiais mais curto, mais estreito e com ápice truncado menos agudamente; vértice achatado entre os lobos superiores dos olhos. Antenas cêrca de uma e meia vêzes o comprimento do corpo; o último artículo um pouco mais longo que o penúltimo.

Protórax, nos lados, igual ao das fêmeas; calosidades longitudinais dispostas do seguinte modo: uma mediana curta, mais elevada no seu meio, reta; duas nos lados da mediana, começando perto da base do protórax e não atingindo a borda anterior, onde se tornam em dois tubérculos muito obtusos, redondos ou alongados, às vêzes obliquos; mais duas elevações nos lados do 1.º par, levemente curvadas e mais obtusas, e as duas últimas nos lados, mais perto da borda anterior.

Élitros, cada um, com curtos espinhos nos ápices, de tamanhos mais ou menos iguais; o desenho consiste de faixas quebradas e uma mancha, tôdas escurecidas: na parte anterior, uma faixa em forma de letra M; no meio, a segunda faixa, que lembra também a letra M, mas com o meio mais largo e os lados ("pernas de letra") divergentes para trás; o último têrço é ocupado por uma mancha oval, que deixa as margens e os ápices dos élitros claros.

Processo prosternal curvado para trás e ligeiramente dilatado no seu ápice; processo mososternal só duas vêzes mais largo que o prosternal (ou 1/6 da

largura da coxa). Fêmures posteriores atingem a extremidade dos élitros; tíbias posteriores revestidas de pêlos densos, subdecumbentes, sem pêlos longos subretos entre êles. Ultimo artículo abdominal mais convexo, entalhado no meio da borda posterior. Comprimento do corpo 16,5 mm.

Fig. 1 — *Eurymeropsis fuscofasciata* sp. n., ♀. Fig. 2 — *Hemilissa undulaticollis* sp. n., ♀.

♀. Antenas um pouco mais curtas que as do ♂, com o último artículo do comprimento do penúltimo; processo mesosternal largo, cêrca de 4 ou 5 vêzes mais largo que o prosternal (ou cêrca de 1/2 da largura da coxa), emarginado na borda posterior; fêmures anteriores menos alargados, igualmente curvados nos lados superior e inferior; último artículo abdominal achatado, com a borda posterior quase reta. Comprimento do corpo 14,5 mm.

Localidade típica: Brasil, Estado do Amazonas e do Pará. — 6 exs.

Holótipo ♂: Pará, Macajubá, Mangabeira, X, 53 (O. Rego leg.). *Alótipo* ♀: Pará, Maracanã, X. 59 (O. Rego leg.). *Parátipos*: 2 ♂ Pará, Belém, 20. V. 52 (O. Rego leg.); Amazonas, Manaus, II. 58 (C. Elias leg.) e 2 ♀, Amazonas, Manaus, IV. 58 (C. Elias leg.), Rio Javari, Estirão Equador, XII. 58 (V. F. Sampaio leg.). Todos os exemplares na coleção de C. A. Campos Seabra (Rio de Janeiro).

Hemilissa undulaticollis sp. n.

(Fig. 2)

Caput, prothorax, mesothorax elytraque nigra, antennis, metathorace, pedibus abdomineque castaneo-infuscatis; corpore supra et prosterno opacis, mesosterno, metasterno, abdomine pedi-

busque nitidis. Caput minute punctatum, fronte transversa, declivi, sulco lineari in medio; tuberculа antennifera lata, sensim producta, apice exterius obtuse dentata; antennae tenues, corpore parum longiores (♂) vel subaequales (♀); prothorax sulco medio lato profundo et opaco, disco transversim grosso-ondulato-striatus; elytra apice emarginata, extus longe dentata, angulo suturali vix producto, supra subplana, lineatim aspero-punctata, punctis apicem versus obsoletis.

♂ . Cabeça, protórax, mesotórax e élitros pretos; antenas, metatórax, pernas e abdômen castanho-escuros; a face superior e prosterno opacos, mesosterno, metasterno, abdômen e pernas brilhantes.

Cabeça com pontuação rasa, pouco aparente; fronte transversa, muito inclinada para diante, com uma linha mediana fina e com várias cerdas; tubérculos anteníferos largos, pouco salientes, cada um, na parte externa, com um dente obtuso; vértice ligeiramente arqueado para a frente, sem escultura visível; a parte posterior da cabeça com pontos rasos. Antenas um pouco mais longas que o comprimento do corpo, ultrapassando os ápices dos élitros com os três últimos artículos, comparativamente estreitas, mais grossas na base, gradualmente estreitadas para o ápice; escapo engrossado, com a face anterior (interior) bem curvada, com rugas e pontas rasas; 3.º artículo um pouco mais longo que o escapo, o último artículo bem mais longo que o penúltimo; artículos 3.º-11.º achatados, não muito largos, bicarenados em ambas as faces; art. 3.º anguloso, art. 4.º-10.º dentados nos ápices externos; o último artículo apendiculado.

Protórax cêrca de 1 1/3 vêzes mais longo que largo, subcilíndrico, ligeiramente estreitado para a frente, com uma larga constrição antes da borda posterior, com a maior largura no meio; disco subachatado, com uma depressão mediana larga, lisa, não brilhante; em ambos os lados da depressão a superfície revela rugas transversais onduladas, pouco salientes; os lados sublisos, só com vários pontos ásperos; prosterno com ligeiras estrias transversais. Escutelo semi-circular.

Élitros cêrca de três vêzes o comprimento do protórax, com os lados paralelos na sua primeira metade, depois um pouco dilatados e estreitados para trás; nos ápices emarginados, com um dente longo agudo externo e um outro, curto, sutural; disco achatado, nos 2/3 anteriores ligeiramente deprimidos ao longo da sutura; superfície com algumas (em cada élitro até dez) séries de pontos ásperos, mais ou menos regulares; os pontos na base maiores e mais densos, no ápice menores e mais dispersos.

Processo prosternal estreito, ligeiramente inclinado para trás, um pouco dilatado no ápice; processo mesosternal 3 vêzes mais largo que o prosternal, deprimido no centro, emarginado no ápice; metasterno e abdômen quase lisos, com vários pêlos dispersos. Pernas gradualmente mais longas, das anteriores às posteriores; fêmures bem clavados, os posteriores atingem o ápice do último segmento abdominal; tíbias anteriores subachatadas e dilatadas para o ápice, as

médias e as posteriores poliédricas, com as carenas longitudinais bem marcadas na parte basal de cada uma

Comprimento do corpo 9,5 mm.

♀. Antenas quase do comprimento do corpo, ultrapassando os ápices dos élitros com a metade do último artículo; fêmures posteriores atingem o meio do último segmento abdominal.

Comprimento do corpo 9 — 10,5 mm.

Localidade típica: Brasil, Est. do Espírito Santo, Corrego do Itá, XI. 1954 (W. Grossmann leg.), XI. 1956 (W. Zikán.). — 4 exs.

Holótipo ♂, *alótipo* ♀ e um *parátipo* ♀ na coleção de C. A. Campos Seabra (Rio de Janeiro); um *parátipo* ♀ na coleção do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas.

A nova espécie é mais próxima de *H. sulcicollis* Bates, de que se distingue pelo aspecto opaco da cabeça, do protórax e dos élitros, pelas antenas estreitas, cada uma com os artículos muito mais longos em comparação com sua largura, pela depressão longitudinal mediana do protórax opaca, pela escultura do pronoto transversalmente ondulada, pelos élitros com pontos regularmente seriados, etc.

CHAVE PARA DETERMINAÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO HEMILISSA PASCOE, 1858

1.	Protórax com uma depressão larga mediana	2
—	Protórax sem depressão larga mediana	3
2.	Prêto-castanho, muito brilhante; antenas largas; pronoto e élitros bem acidentados, o 1.º com depressão mediana brilhante; élitros com séries de pontos pouco regulares. Amazonas, Pará, Brasil interior, São Paulo, Goiás; Bolívia	*sulcicollis* Bates
—	Completamente prêto, opaco; antenas estreitas; pronoto com depressão mediana opaca; escultura nos lados da depressão transverso-ondulada; élitros com séries de pontos ásperos bem regulares. Espírito Santo	*undulaticollis* sp. n.
3.	Cabeça, protórax e pernas flavos; élitros com reflexo violáceo. Bahia	*violascens* (Perty)*
—	Corpo completamente escuro	4
4.	Élitros no ápice largamente flavo-testáceos. Guatemala	*flavicauda* Bates
—	Élitros unicolores	5
5.	Pronoto com dois tubérculos discais; élitros na sua metade posterior muito brilhantes. Paraíba, Bahia,	

* *H. violascens* colocada provisoriamente; talvez pertença a outro gênero.

	Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Goiás	*gummosa* (Perty)
—	Pronoto sem tubérculos discais	6
6.	Pronoto com uma mancha longitudinal preta e muito larga; tubérculos anteníferos bem salientes. Amazonas, Pará, Goiás	*cornuta* Bates
—	Pronoto sem mancha longitudinal preta	7
7.	Rufa, élitros bilunados nos ápices, com o ângulo externo espinhoso e o ângulo sutural apenas saliente. Costa Rica	*rufa* Melzer
—	Violáceo-castanha; élitros bem emarginados nos ápices, cada um bispinhoso, espinho externo mais forte. Argentina	*quadrispinosa* Goun.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 403-407
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

MÉTODOS PARA ESTUDO DE PROTOZOÁRIOS DE TÉRMITA[1]

WEBER DINI e HENRIQUE COUTO CESAR
Faculdade de Farmácia e Odontologia, Araraquara, São Paulo

(Com 6 figuras no texto)

Interessados de há muito no problema da digestão de celulose por protozoários de térmita xilófago, fomos levados inicialmente para a pesquisa dos

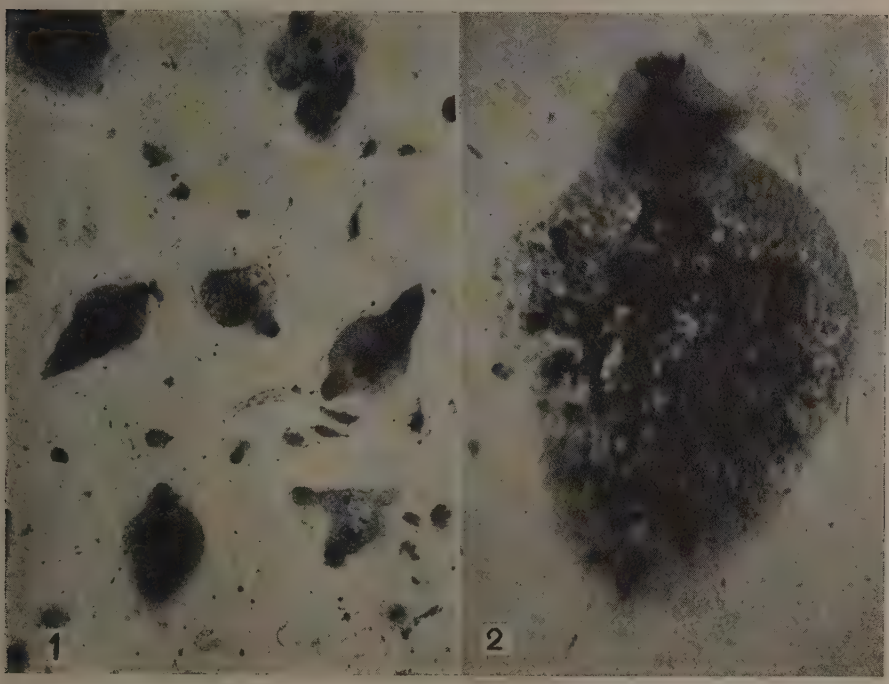


Fig. 1 — Método de Achucarro-Hortega, com viragem, para observar os detalhes citoplasmáticos e celulose (negro): oc. 10, obj. 10 Reichert-Exacta. Fig. 2 — Idem, maior aumento, para observação de tôda a morfologia do flagelado, celulose em negro; oc. 10, obj. 45 Reichert-Exacta.

[1] Recebido para publicação a 9 de agôsto de 1960.

métodos de distensão, fixação e colorações dos flagelados, a fim de que nos possibilitasse a observação daquele polisacáride, como também dos aspectos morfológicos dos microorganismos em questão.

Freitas (1) analisou a morfologia dos protozoários do térmita *Kalotermes wagneri*, mostrando os vários métodos que utilizou para estudo da estrutura dos flagelados. Entre as diferentes técnicas empregadas, usou o método tano-argêntico de Rio Hortega-Achucarro, a reação de Feulgen, a hematoxilina férrica de Heidenhain e outras mais, com fixações apropriadas, como, v.g., formol neutro a 10%, líquido de Bouin e fixador de Schaudinn. Os resultados apontados foram muito variados, porquanto um tipo de coloração evidenciava certas estruturas, prejudicando o aparecimento de outras.

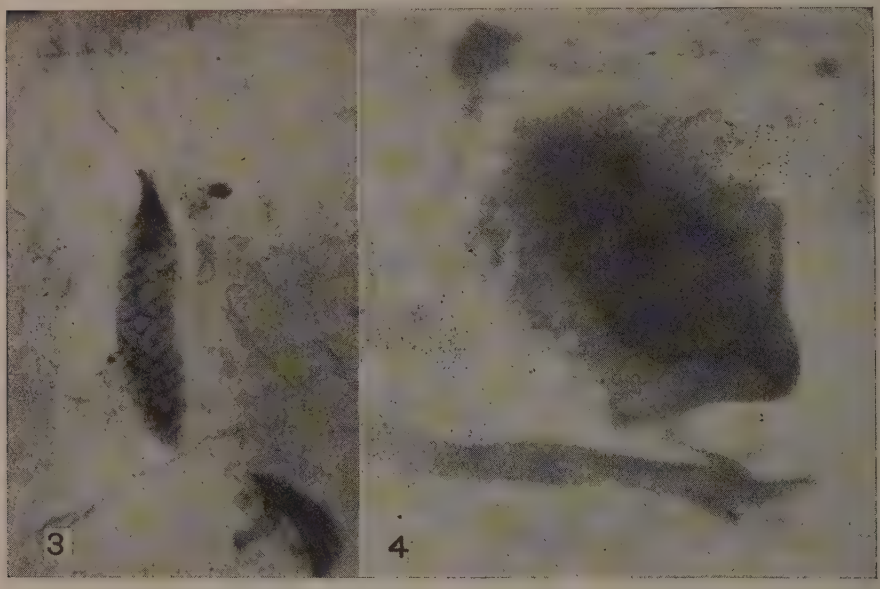


Fig. 3 — Método de Achucarro-Hortega, com viragem, para maior detalhe da fina estrutura (espiral); oc. 10, obj. 45 Reichert-Exacta. Fig. 4 — Idem, sem viragem em ouro, celulose apagada, notando-se entretanto a riqueza em flagelos; oc. 10, obj. 45 Reichert-Exacta.

Ancorados nas observações de Freitas, tivemos nossa atenção voltada para a realização de um método que nos parecia de antemão seguro, qual seja, a impregnação argêntica dos consagrados histólogos espanhóis Achucarro-Hortega, técnica de alta seletividade para exteriorização de finos detalhes citoplasmáticos.

Realizamos ainda os métodos de Feulgen e do ácido periódico-Schiff (PAS), segundo instruções contidas no livro de Lillie (2).

Nota: Os protozoários não foram ainda na sua totalidade por nós identificados; entretanto, tratam-se de pelo menos duas variedades de *Spirotriconympha* e da *Pseudotriconympha Hertwigii*, segundo informações verbais que nos foram prestadas pelo prof. Gilberto de Freitas, a quem neste momento, estendemos nossos profundos agradecimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

1) *Colheita* — Térmita *Heterotermes longiceps* Snyder, 1924, (parte utilizada — intestino).

O térmita foi dissecado sôbre lamínula de vidro para microscopia (24 x24 mm), com auxílio de 2 estiletes, sendo separado o intestino e ligeiramente macerado em uma gôta de água albuminosa, obtida pela dissolução de clara de ôvo de galinha e água destilada em partes iguais, volume a volume (albumina de Mayer modificada). O material assim distendido foi deixado secar à temperatura ambiente e ao abrigo do pó.

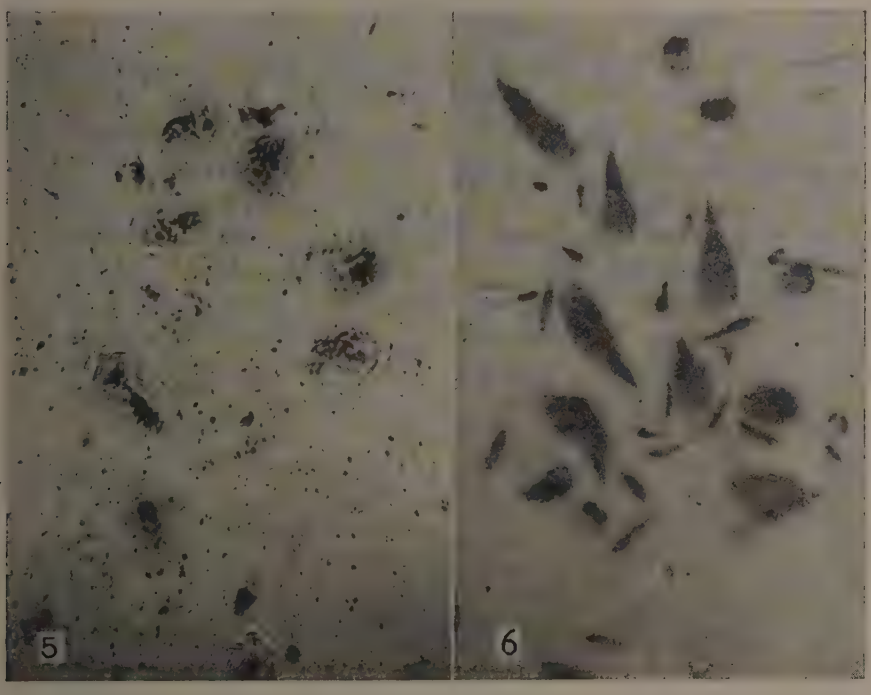


Fig. 5 — Método de Feulgen, observar a celulose e flagelos; oc. 10, obj. 10 Reichert-Exacta. Fig. 6 — Método do ácido periódico-Schiff, morfologia pouco nítida, celulose mais corada; oc. 10, obj. 45 Reichert-Exacta.

2) *Fixação* — Após a secagem, a lamínula com o material foi colocada em recipiente contendo formol neutro a 10% para o método de Achucarro-Hortega, em fixador de Carnoy (durante hora e meia) para a técnica do ácido periódico-Schiff (PAS) e finalmente em o líquido de Schaudinn aquoso para a reação de Feulgen.

3) *Colorações* — O método rápido do PAS, sugerido por Lillie, sofreu ligeira modificação: imergimos o material um minuto em solução de ácido pe-

riódico a 1%, lavamos em água corrente e colocamos em reagente de Schiff por um minuto — êste tempo, muito inferior ao que manda a técnica, se fez necessário devido ao fato da coloração tornar-se borrada se a imersão fôsse mais prolongada. A seguir, lavamos em bisulfito de sódio M/20, em três banhos sucessivos, um, dois e dois minutos. A coloração prosseguiu com nova lavagem em água corrente, que variou no tempo de um a cinco minutos, conforme intensidade de côr desejada, pois esta variava na razão direta do tempo de lavagem. Contracoramos e desidratamos como manda LILLIE (2).

O método de Achucarro-Hortega foi seguido, de acôrdo com as anotações tomadas por um de nós, quando de estágio no Laboratório de Investigações Histológicas da Instituição Cultural Espanhola de Buenos-Aires, sofrendo breve modificação, conforme o esquema abaixo:

1) Lamínulas com o material foram colocadas em solução aquosa de ácido tânico a 3% durante cinco minutos na estufa a 55°C.

2) Lavagem em água destilada com uma gôta de amoníaco até leve transparência (30 ml de água destilada para uma gôta de hidróxido de amônio).

3) Lavagem em água destilada pura, seguida, imediatamente, de imersão do material em solução de prata de Bielchowsky (5 ml da solução de prata e 45 ml de água destilada), até que os cortes adquirissem coloração caramelo.

4) Duas lavagens em água destilada, passando-se em seguida para a solução de cloreto de ouro amarelo a 1/500, durante quinze minutos à temperatura ambiente e quinze minutos na estufa a 55°C.

Nota: A solução de prata de Bielchowsky, foi diluida a 250 ml ao invés de 150 ml.

O método de Feulgen foi efetuado de acôrdo com as normas ditadas pelo tratado de LILLIE (2).

RESULTADOS

Com a técnica tano-argêntica (1.ª variante) com viragem em cloreto de ouro, tôdas as finas estruturas citoplasmáticas dos flagelados foram evidenciadas, salientando-se a perfeita visibilidade em negro dos fragmentos de celulose, bem como, flagelos, espirais e demais detalhes (figs. 1-3). Os cortes sem a viragem mostraram-se muito menos satisfatórios, chamando-se atenção para a pouca observância da celulose, muito embora a técnica tivesse evidenciado de maneira nítida os flagelos (fig. 4).

O método de Feulgen é pouco produtivo para a fina morfologia, entretanto a visão da celulose é perfeita (Feulgen +, fig. 5).

A coloração do ácido periódico-Schiff permitiu evidenciar os fragmentos de celulose em côr vermelha leve (PAS+), porém foi bastante prejudicado o estudo morfológico (fig. 6).

CONCLUSÕES

1) A distensão dos protozoários sôbre lamínula em água albuminosa proporciona segurança no manuseio dos cortes, não ocasionando por sua vez, qualquer alteração na estrutura dos flagelados.

2) A evidenciação dos finos detalhes citoplasmáticos foi obtida com resultados brilhantes, utilizando-se o método de Achucarro-Hortega com viragem em cloreto de ouro.

3) A utilização do método acima sem a necessária viragem em cloreto de ouro, não proporciona os mesmos resultados.

4) A celulose foi observada com nitidez em quase todos os métodos, mas acreditamos em maior especificidade para a reação de Feulgen.

RESUMO

Apresentam os AA. suas observações com as técnicas de distensão, fixação e colorações de protozoários de térmitas, utilizadas para evidenciar celulose e detalhes estruturais.

Verificações pessoais foram empregadas na feitura das diferentes técnicas, salientando-se ao final o valor do método de Achucarro-Hortega com viragem em cloreto de ouro, que proporcionou imagens esclarecedoras dos finos detalhes morfológicos, bem como, a reação de Feulgen para evidenciação da celulose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Freitas, G., 1945, Sôbre a morfologia e ciclo evolutivo dos flagelados do gênero *Metasaccinobaculus* n. gen (Polymastigina, Oxymonadidae) do termita *Kalotermes (Neotermes) Wagneri* Desneux, 1904, com a descrição de duas espécies novas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 43 (2): 349-378.

2. Lillie, R. D., 1954, *Histopathologic technic and practical histochemistry*. Blakiston Co. Inc., New-York.

3. Castro, F. & Couceiro, A. 1955, Studies on vital staining of protozoa. *Exp. Cell. Res.*, 8: 245-247.

4. Serra J., 1959, Estudo das impregnações pelos compostos de prata. *Arq. Brasil. Med.*, 49: 257.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 409-414
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

COMPARATIVE PHYSIOLOGICAL STUDIES ON FOUR SPECIES OF HEMOFLAGELLATES IN CULTURE. V. TRANSAMINASES[1]

RODRIGO ZELEDÓN
Departamento de Parasitologia, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

Few contributions have been made to knowledge of nitrogen metabolism in hemoflagellates. Indirect evidence for the existence of a transaminase system in this group of parasites was first presented by BAERNSTEIN (1953) for the culture form of *Schizotrypanum cruzi*. Other reports on transaminases have been published by BASH-LEWINSON & GROSSOWICZ (1957) working with *S. cruzi*, and by CHATTERJEE & GHOSH (1957) for *Leishmania donovani*. In the present contribution, the ability of four species of hemoflagellates to transaminate a series of amino compounds has been investigated. A preliminary note on the subject has been published (ZELEDÓN, 1959a).

Acknowledgment — I wish to thank Dr. Clark P. Read for advice and criticism during this work and aid in the preparation of the manuscript.

MATERIALS AND METHODS

Hemoflagellates. Details concerning the culture medium used and the origin of the species, *Endotrypanum schaudinni, Leishmania enriettii, Schizotrypanum cruzi* and *S. vespertilionis,* have been given in a previous paper (ZELEDÓN, 1960a).

Enzyme preparation. The flagellates from four 500 ml flask cultures were harvested in the exponential phase of growth by filtering through cheese cloth. To prepare homogenates, the organisms were first washed twice with 0.9 per cent NaCl solution and once with phosphate buffer 0.01 M. (pH 7.6) by centrifugation at 600 x g for 10 minute periods. Use of the hypotonic buffer

[1] Received for publication August 18, 1960.
This paper is based on a portion of a dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Sc. D. in the School of Hygiene and Public Health, Johns Hopkins University, during the tenure of a John Simon Guggenheim Fellowship. This work was supported in part by a grant from the U.S. Public Health Service (E-783).

solution facilitated the subsequent rupture of the cells in the homogenizer. After the third washing, the cells were resuspended in a small volume of the same buffer and homogenized with the aid of a Potter-Elvehjem type glass homogenizer and a small amount of Alumina (hardness 8). The volume was then brought up to the required amount (generally 11 ml) using the same phosphate solution. The crude enzyme extract was then separated from the alumina and cellular debris by a 5 minute centrifugation at the above speed, the supernatant pipetted into a clean tube. After use, the homogenate excess was stored in the deep freeze for nitrogen determination by the nesslerization technique described by Lang (1958).

Reagents. The amino donors were dissolved in 0.05 M. phosphate buffer, pH 7.6, with the exception of glucosamine hydrochloride which was dissolved in water. The alpha-ketoglutaric acid was dissolved in the same buffer and the pH adjusted to 7.6; sodium pyruvate was dissolved in water and the final pH was also 7.6. The materials were all kept in the freezer and warmed at the time of use.

Technique. The technique used in the transaminase determinations was essentially that described by Giri *et al.* (1952a, 1952b). The reaction mixture consisted of the following: 0.25 ml (25 μM) of amino donor (in the case of the dl-amino acids based on the l form), 0.5 ml of the enzyme preparation (60 to 240 μg of N) and 1.0 ml phosphate buffer 0.05 M. at pH 7.6. After equilibration of this mixture and of the keto acid separately at 30°C for 5-10 minutes, 0.25 ml (25 μM) of the latter (alpha-ketoglutarate or pyruvate) were added to attain a reaction volume of 2.0 ml. Due to the insolubility of adenine, cytosine and phenylalanine, these substances were prepared in lower concentrations and 1.0 ml of cytosine solution (25 μM), 0.5 ml of phenylalanine (25 μM) and 1.0 ml of adenine (containing only 15 μM), were used. In all cases the volume was kept constant (2.0 ml) by varying the amount of buffer. After the addition of the amino acceptor, the tubes were protected with a piece of Parafilm, inverted several times and incubated at 30°C. At the end of one hour the reaction was terminated by the addition of 2.0 ml of ethanol and any precipitate formed was centrifuged off. From the supernatant 20 to 90 μl aliquots were applied to a 16 x 18 inch sheet of Whatman N.° 1 chromatographic filter paper with a separation of 1 1/2 inches between each spot and dried with warm air from a blower. The glutamic acid and alanine formed were separated by ascending chromatography using the system butanol: acetic acid: water (4:1:5) as the solvent, for 20 to 22 hours. After that period the cylinders were removed and dried in a current of air in a hood and dipped into a solution of 0.5 per cent ninhydrin in 95 per cent acetone. The chromatogram was developed in an oven at 60-65°C for 20-30 minutes protected by double sheets of wrapping paper. After identification, the spots were cut into pieces of approximately the same size, collected in 30 ml beakers and the colored material eluted with 5 ml of 75 per cent ethanol containing 5 mg per cent of $CuSO_4$. $5H_2O$. The beakers

were shaken in a slide rotator for 5 minutes and the solutions read in a Klett-Summerson colorimeter with green filter (520 mμ) with correction for a blank eluted from a colorless area of the chromatogram. Standard curves were prepared both for glutamic acid and alanine by applying different concentrations of the substances in triplicate, to a sheet of paper, developing them with the ninhydrin reagent and reading in the colorimeter by the above technique. For satisfactory recovery of alanine, it was found necessary to allow the solvent to come into contact with the standard spots before reacting with ninhydrin. Duplicate tubes were run for each amino donor and, in some cases, the reaction was repeated for a particular system.

The following controls were used: a) the reaction mixture with ethanol added before incubation, b) the reaction mixture without the keto acid, c) the reaction mixture without the amino donor (endogenous formation), d) standard amount of glutamic acid or alanine, instead of the amino donor, without the alpha-keto acid, e) the same as preceding control but with alcohol added at the beginning. These last two controls would have indicated any action of the homogenate upon the products and, at the same time, served as standards for calculations of recoveries. The reading of the control c), when higher than that of the blank, was considered as the blank itself and the value substracted from the other readings.

RESULTS

The capacities of the four species of hemoflagellates to utilize in transamination several amino acids and some other amino compounds are presented in Tables 1 and 2. In general the two species of *Schizotrypanum* were able to transaminate all the amino acids tested, plus glutamine and asparagine, in several cases producing high values of the product (values from 20 to 80 μM of amino acid formed per mg N per hour were quite frequent). The values for these two species were very similar and, in general, higher for the system pyruvate→alanine, than those for the system, alpha-ketoglutarate→glutamic acid. In the case of *E. schaudinni* low values were common (less than 20 μM of amino acid formed per mg of N per hour) and in several instances transaminating activity was not detected for a particular amino donor. In this species at least two systems seem to be very important, judging by the high values of the product obtained: glutamic acid formation from alanine and keto acid and the reverse. *L. enriettii* showed more transaminating activity with the system alpha-ketoglutarate→glutamic acid but in all the positive cases the values were very low. With the system piruvate→alanine there was practically no significant transamination with *Leishmania*. The four species were unable to utilize glucosamine, adenine and cytosine as amino donors and *L. enriettii* was also unable to utilize glutamine and asparagine in transaminations.

TABLE 1

Transaminative activity in the four species of hemoflagellates with the system alphaketoglutarate→glutamic acid. Figures are expressed as μM of glutamic acid/mg N/hour. Each figure represents the mean of one duplicate determination

SPECIES	AMINO DONOR														
	l–Histidine	l–Tryptophane	l–Alanine	dl–Aspartic acid	l–Lysine	dl–Valine	dl–Methionine	l–Leucine	l–Arginine	l–Cysteine	dl–Phenyl–alanine	l–Glutamine	l–Asparagine	Glucosamine	Adenine	Cytosine
E. schaudinni	5.2	28.2	93.5	6.0	<1.0	<1.3	11.5	5.2	<1.3	<1.3	41.5	<1.0	5.3	<1.8	<1.8	<1.3
L. enriettii	<1.6	5.9	39.3	3.9	3.7	4.1	7.2	6.1	<1.6	<1.6	8.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<2.0
S. vespertilionis	23.3	16.6	36.5	39.9	<1.7	6.3	23.9	36.0	11.7	25.0	17.4	26.8	13.4	<1.5	<1.5	<1.5
S. cruzi	25.0	17.2	40.2	45.5	<1.6	8.3	25.0	32.9	6.9	36.0	26.8	23.9	11.6	<1.6	<1.3	<1.6

TABLE 2

Transaminative activity in the four species of hemoflagellates with the system pyruvate→alanine. Figures are expressed as μM of alanine/mg N/hour. Each figure represents the mean of one duplicate determination

SPECIES	AMINO DONOR														
	l–Histidine	l–Tryptophane	l–Glutamic acid	dl–Aspartic acid	l–Lysine	l–Valine	dl–Methionine	l–Leucine	l–Arginine	l–Cysteine	dl–Phenyl–alanine	l–Glutamine	l–Asparagine	Glucosamine	Adenine	Cytosine
E. schaudinni	6.4	5.3	72.9	<1.6	5.4	<1.4	19.5	16.1	8.3	<1.2	6.3	7.1	1.9	<1.0	<1.0	<1.0
L. enriettii	<1.2	<1.7	12.2	<1.7	<1.2	<1.2	2.0	<1.2	<1.4	<1.4	2.1	<1.2	<1.2	<1.2	<1.2	<1.4
S. vespertilionis	68.2	25.0	61.4	4.5	2.6	16.0	80.0	106.8	4.1	36.0	40.9	54.2	60.8	<1.1	<1.1	<1.0
S. cruzi	74.0	23.0	57.0	5.0	1.7	10.0	55.9	71.3	5.2	45.3	45.3	54.5	61.5	<1.0	<1.0	<1.0

In the case of the controls d) and e) no important differences were observed and the means for these, in both systems studied, were practically identical. This indicates that there was negligible removal of the products of the reaction. Study of the recoveries showed that, in the case of the system alpha-ketoglutarate→glutamic acid, the mean recovery was 102 per cent standard error: 2.38) and, in the case of piruvate→alanine, 108 per cent (standard error: 1.96).

DISCUSSION

The values obtained in the present study are much higher than those reported by Bash-Lewinson & Grossowicz (1957) for a few amino acids, in the case of *S. cruzi,* but are consistent with their conclusion that, in general, the values are higher for the system pyruvate→alanine than for alpha-ketoglutarate→glutamic acid. The report of Chatterjee & Ghosh (1957), even though it does not present absolute figures, indicates that important transaminating systems occur in *L. donovani.* This is in contrast with the present results with *L. enriettii*. The kala-azar organism, in addition to several other amino acids, utilizes as amino donors glutamine and asparagine, and apparently also adenine, guanine and cytosine. Since no proper controls for endogenous cellular contribution to the products are provided in the latter paper, and no quantitative data are presented, we have to accept with some reservations the "transamination" involving the last three substances. In the present study, neither adenine nor cytosine were amino donors though, in the absence of the endogenous control, some of the results could have given a false impression of "transamination" with the compounds.

In addition to the possible participation of transaminases in the energy metabolism of hemoflagellates, already discussed in previous publications (Zeledón, 1960b, 1960c), it may be said that the enzymes probably play an important role in protein synthesis in the organisms. Newton (1956) has reported that *Strigomonas oncopelti* can be cultivated *in vitro* in a synthetic medium with methionine as the only amino acid. This organism should thus be able to synthesize the necessary amino acids, probably with the participation of transaminating enzymes. The species of *Schizotrypanum,* closely related to this flagellate in several metabolic properties, are also not very exacting organisms, and can be cultivated in media relatively less complex than those required for the true trypanosomes, the leishmaniae, and *Endotrypanum* (Zeledón, 1959b). It is presumed that the potent transaminases present in organisms like *S. cruzi* and *S. vespertilionis* perform an important function in the nutrition of the flagellates *in vitro*. The investigation of transaminase systems in organisms of the primitive "Herpetomonad" group would be highly desirable.

SUMMARY

Transaminases were investigated in homogenates of *Endotrypanum schaudinni, Leishmania enriettii, Schizotrypanum cruzi* and *S. vespertilionis,* by quantitative estimation of the products after chromatographic separation on paper. Eleven amino acids and five other nitrogen compounds were tested as the donors, using alpha-ketoglutarate and pyruvate as the acceptors. The two *Schizotrypanum* showed similar and high transaminating activity in the presence of practically all the amino acids and also with glutamine and asparagine. Values as high as 50 to 100 μM of the product per milligram of N per hour, were observed. *E. schaudinni* exhibited transamination with several amino acids, but glutamic acid and alanine, as amino donors, gave highest values. Transaminases are either absent in *L. enriettii,* or exhibit very low activity with some amino acids. None of the species was able to utilize glucosamine, adenine or cytosine as amino donors for transamination.

REFERENCES

Baernstein, H. D., 1953, The enzyme systems of the culture form of *Trypanosoma cruzi*. *Ann. N. York Acad. Sci.*, 56: 982-994.

Bash-Lewinson, D. & Grossowicz, N., 1957, Transaminases of *Trypanosoma cruzi*. *Bull. Res. Counc. Israel*, 6E: 91-92.

Chatterjee, A. N. & Ghosh, J. J., 1957, Transaminases of *Leishmania donovani*, the causative organism of kala-azar. *Nature*, 180: 1425.

Giri, K. V., Radhakrishnan, A. N. & Vaidyanathan, C. S., 1952a, Transaminase activity in plants. *J. Indian Inst. Sci.*, 34: 305-313.

Giri, K. V., Radhakrishnan, A. N. & Vaidyanathan, C. S., 1952b, Some factors influencing the quantitative determination of amino acids separated by circular paper chromatography. *Anal. Chem.*, 24: 1677-1678.

Lang, C. A., 1958, Simple microdetermination of Kjeldahl nitrogen in biological materials. *Anal. Chem.*, 30: 1692-1694.

Newton, B. A., 1956, A synthetic growth medium for the trypanosomid flagellate *Strigomonas (Herpetomonas) oncopelti*. *Nature*, 177: 279-280.

Zeledón, R., 1959a, Transaminases in four species of hemoflagellates. *J. Parasitol.*, 45 (Suppl.): 49.

Zeledón, R., 1959b, Differentiation of *Trypanosoma rangeli* and *Schizotrypanum cruzi* in a liquid medium, with notes on the nutrition of hemoflagellates. *J. Parasitol.*, 45 (6): 652.

Zeledón, R., 1960a, Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. I. Endogenous respiration and respiration in the presence of glucose. *J. Protozool.*, 7: 146-150.

Zeledón, R., 1960b, Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. II. Effect of carbohydrates and related substances and some amino compounds on the respiration. *J. Parasitol.*, 46: 541-551.

Zeledón, R., 1960c, Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. III. Effect of the Krebs' cycle intermediates on the respiration. *Rev. Biol. Trop.*, 8: 25-33.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 415-424
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

AS RAÇAS GEOGRÁFICAS DE "THAMNOPHILUS DOLIATUS" (LINNAEUS) NO BRASIL (Formicariidae, Aves)[1]

FERNANDO C. NOVAES
Departamento de Zoologia, São Paulo

No presente trabalho estudaremos as variações geográficas apresentadas no Brasil, pela espécie politípica *Thamnophilus doliatus* (Linnaeus), de extensa ocorrência na região neotropical, confinada do México através a América do Sul não ultrapassando o paralelo de 25° de latitude sul. A espécie é altamente variável reconhecendo PETERS (1951) dezessete formas geográficas de distribuição contínua, típica das formas continentais. *Thamnophilus doliatus* é um Formicariidae de tamanho médio com apreciável dimorfismo sexual no colorido. Os machos adultos exibem plumagem estriada de prêto e branco e um topete distinto. As fêmeas são de colorido mais uniforme, predominando as côres castanha e amarelo ocráceo.

Os exemplares usados no presente estudo pertencem às coleções ornitológicas do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura, São Paulo (DZ), Museu Nacional, Rio de Janeiro (MN) e do Museu Paraense Emilio Goeldi, Belem, Pará (MG). As medidas expressas em milímetros foram obtidas com uso de paquímetro, segundo o método de BALDWIN, OBERHOLSER & WORLEY (1931), as quais incluem a corda da asa, cauda, bico (da narina até a ponta) e o tarso. Quando nomeadas em francês, as côres seguem a nomenclatura de SÉGUY, "Code Universel des Couleurs".

1. **Thamnophilus doliatus doliatus** (Linnaeus)

Lanius doliatus Linneaus, 1764: 12 — sem localidade; Surinam pátria típica sugerida por Berlepsch & Hartert, 1902: 70.

Descrição e caracteres raciais — Macho adulto: Fronte branca, com o centro das penas ao longo do raquis prêto; píleo com crista bem desenvolvida de côr branca com mancha apical cuneiforme preta; manto, dorso inferior e uropígio com estrias transversais pretas e brancas; auriculares esbranquiçadas com estrias pretas ao longo do raquis; mento e garganta brancos com o centro das penas

[1] Recebido para publicação a 24 de agôsto de 1960.

prêto formando estrias nítidas; peito e abdômen com faixas transversais da mesma largura, branca acinzentada e preta; coberteiras infracaudais estriadas de prêto e cinza esbranquiçado; cauda preta com a barba interna e externa com nódoas retangulares brancas; coberteiras superiores das asas semelhantes ao dorso; coberteiras inferiores das asas brancas com faixas irregulares pretas; barba interna das rêmiges com faixas brancas.

Fêmea adulta: Fronte e loros "ocre obscur" (215); píleo "Chatain" (111); auriculares e pescoço "ocre obscur" (215) com o centro das penas prêto; mento amarelo esbranquiçado; garganta "ocre obscur" (215) com o raquis das penas escuro; dorso "ocre rouge" (146) x "Chatain" (111); retrizes "feuille morte" x "ocre rouge" (146); peito e abdômen "terre ocreuse" (246); rêmiges pardas com a barba externa semelhante ao dorso; coberteiras inferiores da asa de colorido ocráceo.

Medidas — ♂ — asa 70,1 — 75,1; cauda 55,7 — 63,7; bico 12,3 — 13,3; tarso 26,1 — 28,1. ♀ — asa 67,6 — 76,5; cauda 58,0 — 66,5; bico 11,0 — 14,1; tarso 24,9 — 28,5.

Distribuição geográfica — Venezuela (Bolivar, norte oriental); as três Guianas; Brasil, Território do Amapá, Pará até Óbidos e para leste até a foz do rio Amazonas, ilha de Marajó e arredores de Belem (Castanhal), norte do Território do Rio Branco (Rio Surumú, Rio Branco).

Exemplares examinados — Território do Amapá, Rio Vila Nova, Macapá 1 ♂ (DZ) 2 ♀ (MG); Amapá 1 ♂ (MG); Rio Araguari 2 ♀ (MG); Vila Velha do Caciporé 5 ♂ (MN); Oiapoque 1 ♂ 1 ♀ (MN), Pará, Lago Cuitêua 1 ♂ (DZ), Igarapé Buiussú 1 ♂ 2 ♀ (DZ), Igarapé Bravo 1 ♀ (DZ), Monte Alegre 4 ♂ 1 ♀ (MG) 1 ♂ 1 ♀ (MN). Ilha de Marajó, 3 ♂ 2 ♀ (MG).

A forma típica de *Thamnophilus doliatus* difere de *signatus*, a forma geogràficamente mais próxima em território brasileiro, por ter o píleo muito mais esbranquiçado, as nódoas da cauda mais estreitas e compridas e as estrias pretas da garganta mais largas. As faixas claras das partes inferiores cinza esbranquiçada. As populações do Território do Amapá apresentam os caracteres típicos da raça. Os machos adultos possuem as penas do cocoruto brancas com a porção apical preta. A fronte é distintamente estriada de branco. Os exemplares machos provenientes de Igarapé Buiussú e Lago Cuitêua são perfeitamente semelhantes entre si. As penas da crista brancas com mancha preta apical. As estrias brancas do dorso mais estreitas que as pretas, medindo as brancas 1,7 mm de largura e as pretas 3,7 mm. A fronte é distintamente estriada de branco. As nódoas brancas da cauda são estreitas, não tão largas como em *signatus*. As estrias pretas da garganta e mento são largas e bem distintas. As faixas transversais claras das partes inferiores branco acinzentadas quase da mesma largura das pretas.

Para oeste da área de distribuição de *T. d. doliatus* ocorre intergradação com *signatus*. As populações de Fáro, Rio Jamundá, são referidas por Zimmer (1933) a *signatus*. Gyldenstolpe (1945), ao estudar o material de *doliatus* pertencente ao Museu de Estocolmo, comenta sôbre um exemplar macho proveniente de

Patauá, próximo a Óbidos, que pelos seus caracteres pertence a *doliatus*. PINTO (1947) ao estudar dois exemplares provenientes de Oriximiná, Rio Trombetas, um pouco mais a oeste de Óbidos, chama atenção para a variabilidade dos exemplares desta região. Aves de Monte Alegre, são perfeitamente idênticas aos espécimens do Território do Amapá. As penas da crista das aves de Monte Alegre são brancas, sòmente com a ponta preta. As estrias pretas da garganta são largas como nas aves do Amapá. As nódoas brancas da cauda mais estreitas que as de *signatus*. Os exemplares da ilha de Marajó concordam com a forma nominal. A referência de *T.d. doliatus,* na região de Belem, deve-se a SNETHLAGE (1914), que notifica exemplar de Castanhal. A espécie nessa região parece não ser comum, visto que, apesar de bem explorada ornitologicamente, nenhum outro colecionador aí a encontrou.

2. **Thamnophilus doliatus signatus** Zimmer

Thamnophilus doliatus signatus Zimmer, 1933: 5 — Santarem, Rio Tapajós, Brasil.

Caracteres raciais — Macho adulto: Semelhante a *T. d. doliatus,* porém a crista quase totalmente preta, o branco restrito à parte basal; partes inferiores com o branco mais puro, menos cinza; estrias pretas da garganta mais finas e as nódoas da cauda mais largas; centro do abdômen com as faixas pretas menos nítidas. Difere de *difficilis,* por ter as partes inferiores mais escuras com as faixas brancas mais acinzentadas e a crista mais curta.

Fêmea adulta: Na maioria dos exemplares de *signatus* faltam as estrias escuras da garganta, quase sempre presente em *doliatus*. Difere de *difficilis* em possuir as partes inferiores mais escuras.

Distribuição geográfica — Vale Amazônico, do Rio Negro para leste até o rio Trombetas. Ao sul da margem direita do Rio Purús para leste até o rio Tapajós e o Território da Rondônia. Nordeste da Bolívia (Beni e Cochabamba).

Medidas — ♂ — asa 71,0 — 76,0; cauda 57,1 — 64,7; bico 11,9 — 13,2; tarso 25,0 — 27,0. ♀ — asa 66,2 — 75,0; cauda 60,0 — 64,0; bico 11,5 — 12,5; tarso 25,5 — 28,0.

Exemplares examinados — Pará: Fáro, Paraná Bom Jardim 2 ♀ 2 ♂ (DZ), Santarém 3 ♀ 2 ♂ (DZ) 6 ♂ 8 ♀ (MN), Oriximiná 2 ♂ (DZ). Amazonas: Itacoatiara 12 ♂ 8 ♀ (DZ), Lago do Batista 1 ♀, Manacapurú 3 ♂ 4 ♀ (DZ) 1 ♂ 1 ♀ (MN), Codajáz 2 ♂, Pôrto Velho, Rio Madeira 1 ♀ (DZ) 1 ♂ (MN).

Há grande variação nos caracteres desta subespécie ao longo de sua área geográfica sendo bastante difícil uma diagnose diferencial, em virtude das variações individuais, ora em direção a *doliatus,* ora na de *subradiatus* ou em direção a *difficilis*. Porém, quer nos parecer que *signatus* tem maior parentesco com *difficilis* de Goiás. Um macho adulto de Santarém, localidade tipo de

signatus possui a crista preta, sem vestígio de branco, apenas uma pena occipital é branca. As faixas brancas do dorso são mais estreitas que as pretas. As nódoas brancas da cauda são largas, medindo 3,2 mm de largura. A garganta com as estrias pretas nítidas e largas. As partes inferiores de um branco quase puro e as faixas brancas mais largas que as pretas. Uma fêmea topotípica no. 35943 (DZ) é caracterizada por possuir a fronte "ocre d'Alger" (193); píleo "Chatain" (112); dorso "Chatain" (112) x "ocre rouge" (146); lados da cabeça fulvos com estrias longitudinais pretas; peito e abdômen "terre ocreuse" (246) e a garganta "ocre obscur" (215). Outra da mesma localidade é mais clara em sua coloração geral, por não ser ainda adulta. Dois machos de Fáro, Paraná Bom Jardim, concordam com o topótipo de Santarém. As duas fêmeas da mesma localidade são também semelhantes a fêmea de Santarém. Em 4 dos 8 machos de Itacoatiara, há abundância de branco nas penas da crista, semelhante aos típicos *doliatus*, sendo que em um deles (n.º 17723, DZ) as partes inferiores tendem a copiar a forma típica onde o branco é mais escuro, acinzentado, e o centro do abdômen profusamente riscado de prêto. Na série de fêmeas de Itacoatiara observa-se perfeitamente que os exemplares mais claros estão em muda ou são imaturos.

Um macho adulto de Pôrto Velho, Rio Madeira, pertencente ao Museu Nacional, difere em vários pormenores da série topotípica de Santarém. As estrias da garganta são largas, como em *subradiatus*. As partes inferiores têm o branco mais escuro e o abdômen inferior mais profusamente riscado de prêto. Em outro espécime da mesma localidade há vestígios de côr branca na crista, as faixas brancas das retrizes são largas e a parte central do abdômen esbranquiçada. Um exemplar fêmea do Lago do Batista concorda no colorido com as fêmeas topotípicas. Os exemplares de Manacapurú e Codajás referimos a *signatus*. Em três machos de Manacapurú as faixas claras das partes inferiores são quase branco puro, sem mescla de cinza e as nódoas brancas da cauda largas como em *signatus*. As fêmeas possuem as partes inferiores mais claras que "ocre jaune" (213). No exemplar macho de Codajás as faixas brancas do dorso tendem a ser mais estreitas que as pretas, semelhante a exemplares do Rio Juruá. As nódoas brancas da cauda são largas e o centro do abdômen puxando a branco puro sendo obsoletas as faixas pretas do centro do abdômen. Gyldenstolpe (1945), ao estudar um exemplar macho proveniente de Codajás, refere-o a *signatus*, notando, contudo certa semelhança com *doliatus*. As populações do nordeste da Bolivia foram estudadas por Gyldenstolpe (1945b), com menção das variações a que estão sujeitas estas populações, apresentou caracteres mais próximos a *signatus*.

3. **Thamnophilus doliatus subradiatus** Berlepsch

Thamnophilus subradiatus Berlepsch, 1887: 17 — Alto Amazonas; tipo de Iquitos, Perú.

Caracteres raciais — Macho adulto: Difere de *signatus* por ter as faixas dorsais brancas decididamente mais estreitas; garganta com as estrias pretas mais

largas; peito e flancos com as faixas brancas mais estreitas e mais claras; abdômen com as barras pretas mais distintas. Difere de *radiatus* por ter as partes inferiores muito mais escuras; faixas brancas dorsais mais estreitas.

Fêmea adulta: Difere de *signatus* e *radiatus* pela coloração geral mais carregada.

Medidas — ♂ — asa 70,6 — 72,0; cauda 55,0 — 61,0; bico 11,6 — 12,5; tarso 24,0 — 25,4. ♀ — asa 68,2 — 74,3; cauda 52,9 — 61,5; bico 10,7 — 12,9; tarso 25,7 — 26,5.

Distribuição geográfica — Leste do Perú (Loreto, Amazonas, San Martin, Cajamarco, Junin, Cusco, Madre de Dios), oeste do Brasil até a margem esquerda do Rio Purús.

Exemplares examinados — Amazonas, Rio Juruá, João Pessoa 1 ♂ 2 ♀ (DZ), Rio Eirú, Sta. Cruz 1 ♂ (DZ), Rio Juruá 1 ♂ 2 ♀ (DZ), Rio Branco, Acre 1 ♀.

Zimmer (1953), ao estudar cêrca de 40 peles de várias regiões do Perú, chamou a atenção para a grande variabilidade desta raça. Os machos adultos de *subradiatus* são caracterizados por terem as barras brancas do dorso estreitas e as das partes inferiores da mesma largura das pretas. A fronte é moderadamente estriada de branco e na parte mediana do alto da cabeça há alguns traços de branco nas margens ou nas bases das penas. As fêmeas são bastante carregadas na coloração do dorso" feuille morte" (191), partes inferiores "orange neutre" (211). A fêmea do Rio Branco, Acre, concorda quanto ao colorido com as do Juruá.

Os limites meridionais da área de distribuição de *subradiatus* ainda não foram delimitados. As aves do nordeste da Bolivia e noroeste de Mato Grosso são referidas por Zimmer (1933) e Gyldenstolpe (1945) a *signatus*.

4. **Thamnophilus doliatus radiatus** Vieillot

Thamnophilus radiatus Vieillot, 1816: 315 — Paraguai.

Caracteres raciais — Macho adulto: Difere das demais raças de *T. doliatus* encontradas no Brasil por ter as partes inferiores brancas e as estrias pretas transversais mais estreitas que as brancas, muito reduzidas no centro do abdômen; estrias pretas da garganta limitadas à largura do raquis das penas; cobertoiras infracaudais brancas com as faixas pretas muito reduzidas.

Fêmea adulta: Difere das demais raças de *T. doliatus* do Brasil pela coloração geral mais pálida.

Medidas — ♂ — asa 68,5 — 75,8; cauda 62,0 — 68,8; bico 10,5 — 12,8; tarso 25,2 — 29,2. ♀ — asa 68,6 — 74,0; cauda 57,0 — 67,3; bico 10,5 — 12,2; tarso 26,0 — 28,5.

Distribuição geográfica — Oeste do Brasil, no Estado de Mato Grosso, sueste da Bolivia e Paraguai.

Exemplares examinados — Mato Grosso: Pto. Quebracho 4 ♂, 1 ♀ (MN), Chapada 7 ♂ 3 ♀ (MN) "Mato Grosso" 2 ♂ (MN), Vila Mercedes de Corumbá 1 ♀ (MN), Urucum, Corumbá 1 ♂ (MN), Buriti 1 ♂ (MN), Tapirapoan 1 ♀ (MN), Cuiabá 5 ♂ 9 ♀, Corumbá 2 ♀ 3 ♂ (DZ), Miranda 1 ♀ 1 ♂ (DZ), Salobra 1 ♀ 1 ♂ (DZ), Coxim 1 ♀ 2 ♂, Rondonópolis 1 ♀ 1 ♂, Aquidauana 1 ♂ (DZ).

Oito machos de Cuiabá exibem certa variação individual. De um modo geral esta série é caracterizada, nos machos adultos, por ter a fronte moderadamente esbranquiçada, as penas mais compridas do topete pretas, limitando-se a côr branca na parte externa de algumas penas do píleo. As estrias pretas da garganta são limitadas ao raquis, sendo por conseguinte a garganta extensivamente branca. As estrias brancas do dorso estreitas 2,5 mm de largura. As partes inferiores apresentam as faixas transversais pretas muito reduzidas, não mais de 1 mm de largura. As faixas claras das partes inferiores são branco puro, com o centro do abdômen sem faixas pretas. As coberteiras infracaudais são brancas sendo as faixas pretas obsoletas ou reduzidas a simples mancha na parte central das penas. As manchas brancas da cauda são largas, semi-arredondadas. Nesta série os exemplares (ns. 17.274 e 29.992 DZ) diferem ligeiramente dos demais por terem o centro do abdômen mais intensamente riscado de prêto. Em 5 fêmeas de Cuiabá o píleo é acastanhado e o dorso um pouco mais carregado de "ocre rouge" (146), a garganta é amarela esbranquiçada sem estrias e o peito e abdômen "ocre jaune" (214). Dois casais de Corumbá se assemelham aos exemplares de Cuiabá sendo um dos machos extensivamente branco no centro do abdômen, sem riscas transversais pretas. Da região de Coxim temos dois machos e uma fêmea, os quais concordam perfeitamente com os exemplares de Cuiabá. Exemplares de Miranda e Salobra assemelham-se aos exemplares de Cuiabá e Corumbá. O macho de Aquidauana permite-nos estender a área geográfica de *radiatus* até esta localidade em virtude de o exemplar sob exame apresentar as características de *radiatus*.

5. Thamnophilus doliatus novus Pinto

Thamnophilus doliatus novus Pinto, 1932: 753 — Santana do Paranaiba, Mato Grosso.

Caracteres raciais — Macho adulto: Semelhante a *difficilis*, porém com as partes inferiores mais carregadas de cinza; estrias pretas da garganta mais largas. Semelhante a *radiatus*, porém com as coberteiras inferiores da cauda com as faixas pretas muito mais nítidas, abdômen branco acinzentado em vez de branco puro, fronte com menor quantidade de branco.

Fêmea adulta: Difere de *difficilis* e *radiatus* por ter a coloração geral mais escura.

Medidas — ♂ — asa 70,9 — 78,4; cauda 60,0 — 70,9; bico 11,1 — 13,0; tarso 25,9 — 29,7. ♀ — asa 70,0 — 75,9; cauda 61,5 — 67,5; bico 10,8 — 12,7; tarso 25,6 — 29,6.

Distribuição geográfica — Brasil, Sudeste de Mato Grosso (Campo Grande), oeste de São Paulo e oeste do Paraná.

Exemplares examinados — São Paulo: Porto Cabral, Rio Paraná 2 ♂, Município de Lins 2 ♂ 1 ♀, Cajurú 2 ♂, Macaubas 2 ♂, Anhembi 1 ♀, Avanhandava 1 ♂ 3 ♀, Rio Prêto 1 ♂, Jaboticabal 1 ♂, Porto Tibiriçá 1 ♂, Silvania 1 ♂ 1 ♀. Paraná: Rio Paracai 5 ♂ 5 ♀, Pto. Camargo, Rio Paraná 3 ♂. Mato Grosso: Sant'Ana do Paranaíba 1 ♂ 1 ♀, Campo Grande 3 ♂ 1 ♀, Rio Brilhante 2 ♀.

A necessidade de reconhecer uma raça particular para o sudeste de Mato Grosso e oeste de São Paulo e Paraná prende-se ao fato das variações que as populações apresentam nesta região. As aves dessa região são em média mais avantajadas no comprimento da asa que *radiatus* do Pantanal de Mato Grosso, além de os machos serem relativamente mais escuros em sua coloração geral. Em *novus* os machos adultos possuem as faixas pretas do peito e abdômen mais largas, e as faixas claras cinza esbranquiçado, as coberteiras inferiores da cauda intensamente riscadas de prêto, as estrias pretas da garganta mais largas e mais escuras. As fêmeas são de colorido geral mais carregado. Três machos e uma fêmea de Campo Grande concordam com o tipo. A crista é longa e preta, sem branco, as estrias pretas da garganta largas e nítidas, as coberteiras infracaudais fortemente listadas de prêto, as faixas claras são cinza esbranquiçadas. A fêmea tem o peito e abdômen de côr "abricot" (212) e o dorso castanho arruivado.

No lote de um macho e três fêmeas de Avanhandava, São Paulo, assemelham-se os machos, na coloração, à forma *radiatus*. Na crista há certa quantidade de branco na base das penas e a fronte é profusamente estriada de branco. As estrias pretas da garganta são finas. As faixas pretas do abdômen e peito mais estreitas que as brancas. As coberteiras infracaudais são fortemente barradas de faixas pretas. As fêmeas, quanto ao colorido, são semelhantes às de Campo Grande.

Quatro machos e uma fêmea do Rio Paraná (Pôrto Cabral, Jupia, Pôrto Tibiriçá) se aproximam indiscutìvelmente de *novus*. O branco da fronte é muito reduzido, as faixas pretas das partes inferiores são largas e nítidas e as infracaudais densamente riscadas de prêto. As faixas claras das partes inferiores cinza esbranquiçado. O exemplar macho de Pôrto Tibiriçá destoa da série sòmente por ter o centro do abdômen branco puro.

Em 12 exemplares do Estado de São Paulo (Jaboticabal, Anhembi, Macaubas, Rio Prêto, Silvânia, Lins, Cajuru) exibem as variações a que está sujeita a raça *novus* no Estado de São Paulo. Nestes exemplares observa-se certa similitude de alguns exemplares em direção a *radiatus*. Porém, em conjunto, a maioria deles tende a copiar as características da raça *novus*. As coberteiras infracaudais são fortemente estriadas de prêto com barras largas e nítidas. No exemplar macho de Silvânia, as faixas pretas do dorso são mais estreitas e o branco mais puro. A garganta é fortemente estriada de prêto. Das três fêmeas é a de Sil-

vânia que mais se aproxima na côr do abdômen de *radiatus*. Resumindo, observamos que os exemplares de São Paulo possuem em geral as faixas pretas das partes inferiores largas e nítidas, semelhantes ao tipo de *novus*. A crista dos machos em *novus* é relativamente mais comprida, semelhante a *difficilis*, enquanto que *radiatus* tem a crista mais curta. Do Estado do Paraná possuimos 13 exemplares provenientes do Rio Paracai e Pôrto Camargo, afluente e cidade do Rio Paraná. Nesta série os machos possuem a garganta com largas estrias pretas, as faixas pretas das partes inferiores largas e as claras cinza esbranquiçado. As coberteiras infra-caudais fortemente estriadas de prêto. As fêmeas de coloração mais carregada que as de *radiatus*.

6. **Thamnophilus doliatus difficilis** Hellmayr

Thamnophilus nigricristatus difficilis Hellmayr, 1903: 216 — Rio Claro, Goiás, Brasil.

Caracteres raciais — Macho adulto: Semelhante a *radiatus*, porém com o branco das partes inferiores mais acinzentado; fronte com maior quantidade de branco e as faixas pretas do mento e garganta mais nítida. Difere de *signatus* por ter as faixas claras do abdômen branco puro e as faixas pretas das partes inferiores ligeiramente mais estreitas.

Fêmea adulta: Difere de *radiatus* por ter a plumagem geral mais escura.

Medidas — ♂ — asa 72,4 — 78,1; cauda 61,3 — 71,4; bico 10,9 — 12,6; tarso 25,6 — 30,0. ♀ — asa 72,9 — 78,1; cauda 60,0 — 67,8; bico 11,2 — 13,2; tarso 26,5 — 28,5.

Distribuição geográfica — Leste do Brasil, do baixo Rio Tocantins através o Maranhão (Rio Parnaiba), sudoeste do Piauí, Goiás, leste de Mato Grosso, Rio Cristalino, Chavantina.

Exemplares examinados — Goiás: Rio Verde 2 ♂ 1 ♀ (DZ), Inhumas 2 ♂ 1 ♀ (DZ), Rio Claro 1 ♂ (DZ), Jataí 1 ♂ 1 ♀ (DZ), Leopoldina 1 ♂ (MN), Ilha do Bananal, Furo de Pedra 1 ♂ 1 ♀ (MN), Serra Geral 1 ♂ (MN). Pará: Conceição do Araguaia 2 ♂ (DZ). Mato Grosso: Pontal, Serra Azul 1 ♂ 1 ♀ (DZ), Dumbá 3 ♂, São Domingos 1 ♂ 1 ♀. Maranhão: São Bento 1 ♂, 1 ♀ (MN).

A localidade tipo de *difficilis* é Rio Claro, sul de Goiás. Os exemplares do sul de Goiás a nossa disposição provêm de Rio Verde, Inhumas e Jatai. Os machos dessas localidades se caracterizam em possuir a crista preta, moderadamente longa, sem branco ou, quando presente, na parte basal das penas; abdômen com as faixas claras quase branco puro e as faixas pretas conspícuas; coberteiras infracaudais riscadas de barras pretas em fundo branco; e diferem de *novus* por ter a crista mais longa e as partes inferiores mais claras. As fêmeas de *difficilis* são idênticas a *novus*. Os exemplares do leste de Mato Grosso (Rio das Mortes) concordam com as populações de Goiás. Um exemplar de Dumbá

na coloração das partes inferiores tende a se aproximar de *radiatus* por ter as faixas claras extensivamente brancas e as faixas pretas muito reduzidas na largura. As estrias pretas da garganta são limitadas ao raquis. Dois machos provenientes de Conceição do Araguaia, Rio Araguaia, são semelhantes aos de Goiás. Sôbre as variações desta raça no nordeste consultar os trabalhos de HELLMAYR (1929) e NAUMBURG (1937).

7. **Thamnophilus doliatus capistratus** (Lesson)

Tamnophilus (sic) *capistratus* Lesson, 1840: 226 — Brasil.

Caracteres raciais — Macho adulto: Difere das demais raças de *doliatus* por ter as nódoas brancas das retrizes pequenas e restritas à barba externa, o par mediano exibe algumas vêzes sòmente umas poucas pintas ao longo da barba interna. Linha mediana do abdômen sem barras pretas quase branco puro.

Fêmea adulta: Difere das outras subespécies por possuir estrias, descontinuas, porém distintas linhas escuras no peito, enquanto a garganta é mais fortemente estriada de prêto.

Medidas — ♂ — asa 75,1 — 81,0; cauda 64,0 — 67,6; bico 10,6 — 12,2; tarso 27,5 — 29,2. ♀ — asa 73,2 — 77,2; cauda 63,8 — 67,2; bico 11,2 — 11,9; tarso 28,0 — 29,5.

Distribuição geográfica — Leste do Brasil, nos Estados do Ceará, Paraíba, Pernambuco, leste e sul do Piauí e Bahia; oeste de Minas Gerais.

Exemplares examinados — Ceará: Ladeira Grande 1 ♀ 1 ♂ (MN); Icarai, Mosquito 5 ♂, 1 ♀ (DZ); Baturité 2 ♀ (DZ). Paraíba: Coremas 6 ♂ 1 ♀ (DZ). Alagoas: Engenho Riachão, Quebrangulo 2 ♂ 3 ♀ (DZ). Bahia: Maracujá, Sta. Rita de Cassia, Rio Prêto 2 ♂ 3 ♀ (DZ); Buritirama 3 ♂ (DZ), Minas Gerais: Januária, Rio São Francisco 3 ♂, 2 ♀ (MN).

É no sudeste do Piauí a região mais setentrional já assinalada para a área geográfica de *capistratus*. HELLMAYR (1929) notifica dois machos e uma fêmea de Arara próximo a Ceará e Piauí, cujas características são idênticas às dos exemplares da Bahia. Cinco machos de Icarai, Mosquito apresentam as características típicas de *capistratus*. Um macho em muda pós-juvenil, as penas centrais da cauda são pretas, notando-se apenas vestígios das nódoas brancas. Uma fêmea de Baturité difere de outra da mesma localidade pela coloração muito mais pálida em virtude de estar em muda pós-juvenil. O exemplar macho de Ladeira Grande possui as nódoas brancas da cauda arredondadas. Na série de machos da Paraíba, Coremas, em dois as retrizes centrais são completamente pretas. As aves de Alagoas apresentam o mesmo tipo de variação das aves do Ceará e Paraíba. Os exemplares de Januária, Minas Gerais, têm a crista preta, sem qualquer quantidade de branco, as barras pretas das partes inferiores são largas, cuneiformes. A garganta com largas estrias pretas. Faltam as manchas brancas no par mediano das retrizes.

SUMMARY

A review of the subspecies of *Thamnophilus doliatus* in Brasil. Seven geographic races are recognized. Comments on individual variation are presented.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baldwin, S. P., Oberholser, H. C. & Worley, L. G., 1931, Measurements of birds. *Sci. Publ. Cleveland Mus. Nat. Hist.*, 2: 1-165.

Berlepsch, H., 1887, Systematisches Verzeichniss der von Hern Ricardo Rohde in Paraguay gesammelten Vögel. *J. Fr. Ornithol.*, 35: 1-37.

Berlepsch, H. & Harter, E., 1902, On the birds of the Orinoco Region. *Novit. Zool.*, 9: 1-135.

Gyldenstolpe, N., 1945, A contribution to the Ornithology of northern Bolivia. *Kgl. Sv. Vet. Akad. Handl.*, 23 (1): 1-300.

Gyldenstolpe, N., 1945, The bird fauna of the Rio Juruá. *Kgl. Sv. Vet. Akad. Handl.*, 22 (3): 1-338.

Gyldenstolpe, N., 1950, The ornithology of the Rio Purus region in Western Brazil. *Ark. Zool.*, 2 (1): 1-320.

Hellmayr, C. E., 1903, Ueber neue und wenig bekannte südamerikanisch Vögel. *Verh. K. K. zool. bot. Ges. Wien*, 53: 199-223.

Hellmayr, C. E., 1929, A contribution to the ornithology of northeastern Brasil. *Field Mus. Nat. Hist. Publ.*, 225, Zool. Ser. 12 (18): 235-501.

Lesson, R. P., 1840, Observations zoologiques. *Rev. Zool.*, : 225-227.

Linnaeus, C., 1764, Museum S.R.M. Adolphi Friderici Regis. Tomi secundi Prodromus: 110 pp. (Não consultado).

Naumburg, E. M. B., 1937, Studies of birds from eastern Brazil and Paraguay, based on a collection made by Emil Kaempfer. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, 74 (3):139-205.

Peters, J. L., 1951, *Check-list of birds of the world*. 7: X+318 pp., Cambridge, USA.

Pinto, O. M. O., 1932, Resultados ornithologicos de uma excursão pelo oeste de São Paulo e sul de Mato Grosso. *Rev. Mus. Paul.*, 17 (2): 691-826.

Pinto, O. M. O., 1947, Contribuição à Ornitologia do Baixo Amazonas. *Arq. Zool. Est. S. Paulo*, 5 (6): 311-482.

Snethlage, E., 1914, Catalogo das aves amazonicas. *Bol. Mus. Goeldi*, 8: 1-530.

Vieillot, L. J. P., 1816, Nouveau dictionnaire d'Histoire Naturelle, 3: 315 pp. (Não consultado).

Zimmer, J. T., 1933, Studies of Peruvian birds.*IX*- The Formicarian genus Thamnophilus. Part. 1. *Amer. Mus. Novit.*, 646: 1-22.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 425-427
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

CONSTITUIÇÃO CROMOSSÔMICA DE DUAS ESPÉCIES DE ARANHAS DO GÊNERO "LOXOSCELES"[1]

WILLY BEÇAK e MARIA LUIZA BEÇAK
Instituto Butantan, São Paulo

(Com 4 figuras no texto)

As aranhas do gênero *Loxosceles* (Loxoscelinae, Scytodidae) habitam as zonas tropicais, sub-tropicais e temperadas no mundo inteiro. São de vida sedentária, hábitos noturnos, encontradas na natureza em lugares escuros como buracos e grutas, sob pedras e casca de árvores ou em locais de construção, sob tijolos, telhas e madeira e em fendas de paredes. Produzem teias irregulares, brancas, adesivas, em forma de flóculos (GERTSCH, 1958).

O gênero *Loxosceles* (HEINECKEN & LOWE, 1832 (1835)) apresenta os caracteres gerais da sub-família. As dimensões do corpo variam de 8 a 15 mm, tendo as pernas de 18 a 30 mm. Caracterizam-se pela coloração amarelo-cinzenta do corpo e das pernas, côr ferruginosa das quelíceras, fronte e lábio. Apresentam abdômen ovalado e mais elevado que o cefalotórax. Êste é alongado, achatado na parte anterior e levemente bilobado na parte posterior. A parte correspondente ao "cephalon" é saliente e delimitada posteriormente por dois sulcos divergentes. Apresentam seis olhos dispostos em três díadas, havendo geralmente pequena diferença de tamanho entre os mesmos. Os machos são geralmente menores e mais delgados que as fêmeas, e têm pernas mais longas em relação ao comprimento do corpo (BÜCHERL, 1960).

O gênero *Loxosceles* inclui um grande número de espécies distribuídas no mundo inteiro, sendo uma tropical cosmopolita, 3 paleárticas, 8 etiópicas, 15 norte e centro-americanas e 16 sul-americanas (BÜCHERL, 1960).

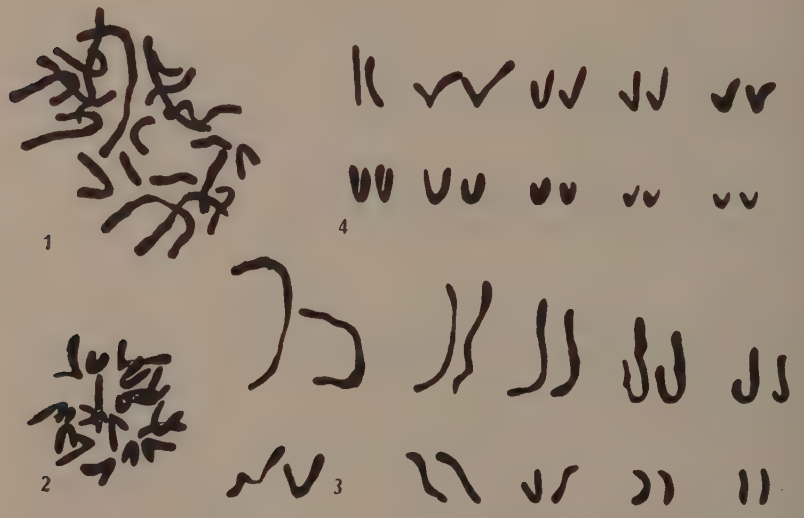
Foram-nos gentilmente cedidos, pelo Dr. Bücherl, exemplares machos de duas espécies, *Loxosceles rufescens* (Dufour, 1820) e *Loxosceles rufipes* (Lucas, 1834), provenientes de São Paulo (Taipas, Morumbi, Butantan) e Montevidéu, que utilizamos como material para o presente trabalho.

---

[1] Recebido para publicação a 26 de agôsto se 1960.
Trabalho realizado com auxílio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

As aranhas foram dissecadas em solução fisiológica, os testículos retirados e colocados em orceína 1% — ácido acético 45%. Após 15 minutos de fixação e coloração o material foi transferido para lâmina, contendo uma gôta de solução de glicerol 10% — ácido acético 45% e recoberto com lamínula (RITTER, 1958). Procedeu-se então a técnica do esmagamento, seguida de lutágem e exame ao microscópio. Foram estudados 20 exemplares machos de cada espécie. Nas preparações foi analisada a meiose sendo os desenhos feitos com câmara clara.

Todos os espécimens de *Loxosceles refescens* e *Loxosceles rufipes* estudados apresentaram o mesmo número diplóide de cromossomas, 20. Nas figuras 1 a 4 podem ser observados os cariótipos das duas espécies, com os respectivos cromossomas dispostos em pares. Infelizmente não pudemos encontrar, como seria desejável, células de *L. rufescens* e *L. rufipes* exatamente no mesmo estádio.



Célula diplóide, de testículo, com 20 cromossomas — Fig. 1: De *Loxosceles rufescens*, de Táipas; fig. 2: de *Loxosceles rufipes*, de Montevideu. — Cromossomas de célula diplóide de testículo, dispostos em pares — Fig. 3: De *L. rufescens;* fig. 4: de *L. rufipes.*

As duas espécies descritas são morfològicamente muito semelhantes. Segundo BÜCHERL, os machos só podem ser distinguidos por certas particularidades nas medidas das peças que compõem o palpo e pela relação entre as medidas das pernas, enquanto que, as fêmeas só podem ser distinguidas por esta última característica. A semelhança nos hábitos e na morfologia das duas espécies e a identidade do número de cromossomas não permitem confirmar pertencerem os exemplares a espécies diferentes.

Sòmente estudando a reprodução e a descendência dessas aranhas, assim como suas populações, será possível esclarecer se *Loxosceles rufescens* e *Loxosceles rufipes* são realmente espécies diferentes ou raças de uma mesma espécie.

SUMÁRIO

O estudo citogenético de duas espécies do gênero *Loxosceles* (*L. rufescens* e *L. rufipes*) demonstra possuírem ambas o mesmo número diplóide de cromossomas, 20 (figs. 1 a 4). A semelhança nos hábitos e na morfologia das duas espécies e a identidade do número de cromossomas, não permitem confirmar pertencerem os exemplares a espécies diferentes.

SUMMARY

The cytogenetics study of two species of the genus *Loxosceles* (*L. refescens* and *L. rufipes*) indicates that both of them possess the same diploid number of chromosomes, 20 (figs. 1-4). The similarity of both species concerning their habits and morphological characteristics as well as the identity of the number of chromosomes do not permit to confirm that the respective specimens belong to different species.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bücherl, W., 1960, Aranhas do gênero Loxosceles e "Loxoscelismo" na América do Sul. I. Introdução, comentários bibliográficos, caracterização da sub-família Loxoscelinae, do gênero Loxosceles e enumeração das espécies da América do Sul. *Comunicação apresentada na XII Reunião da Sociedade Brasileira Para o Progresso da Ciência.*

Gertsch, W. J., 1958, The spider genus Loxosceles in North America, Central America and the West Indies. *Amer. Mus. Novit.*, 1907: 46 pp., 97 figs.

Ritter, H. B., 1958, A simple permanent aceto-orcein stain for free cells, cultures and homogenates. *Stain Techn.*, 33 (4): 167-170, 4 figs.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 429-434
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

GINANDROMORFOS DE "AEDES (STEGOMYIA) AEGYPTI" (L.) (Diptera, Culicidae)[1]

P. C. A. ANTUNES e O. P. FORATTINI
Faculdade de Higiene e Saúde Pública, São Paulo

(Com 11 figuras no texto)

Neste trabalho são descritos três ginandromorfos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.). Os espécimes foram obtidos pelo primeiro autor, em maio de 1935, no Laboratório do Serviço Nacional de Febre Amarela, em Salvador, Bahia, de colônia então mantida para experiências de transmissão do virus e estudo de

Figs. 1 a 3 — Espécime n.º 5991.

seu comportamento no mosquito. Acham-se depositados sob os números 5991, 5992 e 5993 na coleção entomológica do Departamento de Parasitologia, da Faculdade de Higiene e Saúde Pública, da Universidade de São Paulo.

---

[1] Recebido para publicação a 9 de setembro de 1960.

Trabalho do Departamento de Parasitologia, da Faculdade de Higiene e Saúde Pública, da Universidade de São Paulo (Diretor: Prof. José de Oliveira Coutinho).

A seguir, uma descrição sumária dos caracteres externos de maior interêsse, do ponto de vista do ginandromorfismo. Os espécimes apresentam os dois tipos de dimorfismo sexual, bipolar e lateral.

Espécime n.º 5991 (figs. 1 a 3) — Antenas masculinas. Palpo direito masculino. Palpo esquerdo masculino, embora mais curto que o normal e com os últimos segmentos alterados (fig. 2). Garras tarsais femininas nas patas anterior esquerda e média direita. Pata anterior direita com garras tarsais desiguais, tendendo para o tipo masculino, uma delas com pequeno tubérculo. Pata média esquerda também com garras tarsais desiguais, uma do tipo masculino e outra do tipo feminino. Asas desiguais em tamanho, uma delas tendendo para o tipo masculino, enquanto que a outra é do tipo feminino. Abdômen e genitália femininos (fig. 3).

Espécime n.º 5992 (figs. 4 a 8) — Antenas femininas. Palpo esquerdo feminino. Palpo direito do tipo masculino, mais curto porém do que o normal e com os últimos segmentos deformados (fig. 5). Patas anteriores, ambas com garras tarsais desiguais, uma do tipo masculino e outra do tipo feminino. Pata média esquerda também com garras tarsais desiguais, uma tendendo para o tipo masculino e outra para o feminino. Pata média direita, com garras tarsais femininas. Asas de tamanho desigual, uma do tipo masculino e outra do feminino (figs. 7 e 8). Abdômen e genitália, masculinos (fig. 6).

Figs. 4 a 6 — Espécime n.º 5992.

Espécime n.º 5993 (figs. 9 a 11) — Antenas masculinas. Palpo esquerdo masculino. Palpo direito do tipo masculino, porém mais curto que o normal e com os últimos segmentos alterados (fig. 10). Garras tarsais da pata anterior esquerda desiguais, uma do tipo masculino e outra do feminino. Pata anterior direita com falta do último segmento tarsal. Pata média esquerda, com garras tarsais tendendo para o tipo masculino, sem tubérculo. Pata média direita com garras tarsais femininas. Asas desiguais em tamanho, uma do tipo masculino e a outra do feminino. Abdômen e genitália, femininos (fig. 11).

A presença de ginandromorfos entre os *Culicidae* tem sido assinalada até agora como ocorrência relativamente rara. MARSHALL (1938) é de opinião de que ela deve ser mais difícil de se observar do que geralmente se supõe.

Figs. 7 e 8 — Espécime n.º 5992.

Os elementos morfológicos observados nos casos conhecidos, dizem em geral respeito aos órgãos externos relacionados com o dimorfismo sexual, tais como

Figs. 9 a 11 — Espécime n.º 5993.

as antenas, palpos, tarsos e asas, bem como as genitálias. Assim, pois, a presença dêsses órgãos com o caráter de um dos sexos, associada à existência de genitália do sexo oposto, podendo esta apresentar-se mais ou menos desenvolvida, é o

que consta da maioria das descrições dos casos conhecidos. No que concerne à anatomia interna, cabe mencionar a descrição de Brelje (1923), ao lado dos caracteres externos, de um exemplar de *Aedes punctor* Kirby.

Quanto ao comportamento dos mosquitos ginandromorfos, conhecem-se as observações mais minuciosas que acompanham as descrições de Roth & Willis (1952). Êstes autores observaram a falta de hematofagia e a pouca ou nula atividade sexual. Nesse particular, obtiveram resposta de três exemplares ginandromorfos ao som do diapasão, sendo que as reações se aproximavam mais do normal nos espécimes que apresentavam estruturas mais masculinas. Blasquez & Maier (1951) observaram que ginandromorfos com caracteres secundários femininos, conseguiam atrair machos normais.

A grande maioria dos trabalhos sôbre ginandromorfos de culicídeos é baseada no estudo de espécimes coletados na natureza. Fazem exceção as observações de Smyly (1942), Blasquez & Maier (1951), Roth & Willis (1952) e a presente, cujo material é constituído de ginandromorfos obtidos de colônias mantidas em laboratório.

As observações de Blasquez & Maier (1951) foram feitas sôbre gerações de *Culex pipiens fatigans* Wied. criadas em laboratório e submetidas à exposição de DDT, com o objetivo de obter raça resistente a êsse inseticida. Dentre os 8.751 mosquitos adultos examinados, encontraram 50 ginandromorfos (5,7%). Comparando êstes achados com aqueles já publicados, sôbre ginandromorfos coletados na natureza, concluiram pela freqüência significante dêsse fenômeno nas condições acima citadas.

Compulsando a literatura, encontramos referência a 85 casos de culicídeos ginandromorfos que, com os aquí descritos perfazem um total de 88 conforme consta da lista publicada na página seguinte.

No caso particular do *Aedes* (*S.*) *aegypti*, temos que assinalar o exemplar descrito por Martini (1930), aquêle descrito por Smyly (1942), os três que serviram às observações de Roth & Willis (1952) e os aqui descritos. Com exceção do primeiro caso, os demais são exemplares provenientes de colônias estabelecidas em condições de laboratório. Temos pois, um total de oito espécimes ginandromorfos de *A.* (*S.*) *aegypti* descritos até o presente.

SUMMARY

Three new gynandromorphs of *Aedes aegypti* (*L.*) are described. The literature on the subject in *Culicidae* is reviewed: 88 specimens have been recorded, belonging to 18 different species.

ESPÉCIES	Número de exemplares	Autores
Aedes abserratus (Felt & Young) (=*implacabilis* Walker)	1	Felt (1904)
Aedes aegypti (Linn.)	1	Martini (1930)
Aedes aegypti (Linn.)	1	Smyly (1942)
Aedes aegypti (Linn.)	3	Roth & Willis (1952)
Aedes aegypti (Linn.)	3	Antunes & Forattini*
Aedes canadensis (Theob.)	1	Carpenter (1948)
Aedes detritus (Haliday)	1	Marshall (1938)
Aedes pullatus (Coq.)	1	Felt (1905)
Aedes punctor (Kirby)	3	Edwards (1917)
Aedes punctor (Kirby) (=meigenanus Dyar)	1	Martini (1921), ** Brelje (1923)
Aedes punctor (Kirby)	1	Shute (1926)
Culex coronator Dyar & Knab	1	Komp & Bates (1948)
Culex nigripalpus Theob.	1	Rings (1946)
Culex nigripalpus Theob.	1	Warren & Hill (1947)
Culex pipiens fatigans Wied. (=*pipiens quinquefasciatus* Say, =*quinquefasciatus* Say)	2	Middlekauff (1944)
Culex pipiens fatigans Wied. (=*fatigans* Wied.)	50	Blasquez & Maier (1951)
Culex pipiens molestus Forskal (=*molestus* Forskal)	1	Marshall (1938)
Culex pipiens molestus (=*molestus* Forskal)	3	Gilchrist & Haldane (1947)
Culex pipiens molestus Forskal	1	Gratz (1954)
Culex pipiens pipiens Linn. (=*pipiens* Linn.)	1	Marshall (1938)
Culex pipiens pipiens Linn. (=*pipiens* Linn.)	1	Weyer (1938)
Culex salinarius Coq.	2	Roth (1948)
Culex theileri Theob.	1	Bedford (1914)
Haemagogus spegazzini falco Komp, Osorno & Boshell	1	Komp & Bates (1948)***
Orthopodomyia fascipes (Coq.)	1	Roth (1948)
Orthopodomyia signifera (Coq.)	1	Roth (1948)
Culiseta annulata (Schrank) (*Theobaldia annulata* Schrank)	1	Classey (1942)
Toxorhynchites brevipalpis brevipalpis Theob, (=*Megarhinus brevipalpis* Theob.)	1	Muspratt (1951)
Culicidae indet.	1	Middlekauff (1944)
TOTAL	88	

* Descritos neste trabalho
** O espécime de Martini (*nigripes Z.*) é o mesmo estudado por Brelje (*meigenesis*).
*** Referindo-se ao mesmo material, Bates (1949) menciona dois espécimes. Fica-se na dúvida se se trata de êrro tipográfico ou se são dois exemplares, incluindo ou não o citado por Komp & Bates (1948). Em vista disso, não é aqui considerada a citação de Bates (1949).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bates, M., 1949, *The Natural History of Mosquitoes*, MacMillan Co., N. Y. (cf. p. 65).

Bedford, G. A., 1914, A curious mosquito. *Trans. R. Soc. S. Afr.*, 4: 143.

Blasquez, J. & Maier, J., 1951, Ginandromorfismo en *Culex fatigans* sometidos por generaciones sucesivas a exposiciones de DDT. *Rev. Sanid. Asist. Soc.*, 16 (5/6): 607-612.

Brelje, R. von Der, 1923, Ein fall von Zwitterbildung bei *Aedes meigenensis* (*Diptera, Culicidae*). *Arch. Mikr. Anat.*, 100: 317-343.

Carpenter, S. J., 1948, Gynandromorphism in *Aedes canadensis*. *J. Econ. Ent.*, 41: 522-523.

Classey, E. W., 1942, Gynandromorphism in *Theobaldia annulata* Schrank (*Diptera, Culicidae*). *Entomologist*, 75: 181.

Edwards, F. W., 1917, Notes on *Culicidae*, with descriptions of new species. *Bull. Ent. Res.*, 7: 201-229.

Felt, E. P., 1904, Mosquitoes or Culicidae of New York State. *Bull. N. Y. State Mus.*, 79: 241-400.

FELT, E. P., 1905, Studies in Culicidae. *Bull. N. Y. State Mus.*, 97: 442-497.

GILCHRIST, E. M. & HALDANE, J. B. S., 1947, Sex linkage and sex determination in a mosquito *Culex molestus*. *Hereditas*, 33: 175-190.

GRATZ, M. G., 1954, A gynandromorph of *Culex pipiens molestus* (Forsk). *Mosquito News*, 14: 22-23.

KOMP, W. H. W. & BATES, M., 1948, Notes on two mosquito gynandromorphs from Colombia. (*Diptera, Culicidae*). *Proc. Ent. Soc. Wash.*, 50 (8): 204-206.

MARSHALL, J. F., 1938, *The British Mosquitoes*, British Mus., London. (cf. pp. 310-313).

MARTINI, E., 1921, Uber einen Aëdeszwitter. *Arch. Schiffs Trop. Hyg.*, 25: 363-364.

MARTINI, E., 1930, Ein Zwitter von der Gelbfiebermücke (*Diptera*). *Stett. Ent. Z.*, 91: 83-85.

MIDDLEKAUFF, W. W., 1944, Gynandromorphism in recently collected mosquitoes. *J. Econ. Ent.*, 37 (2): 297.

MUSPRATT, J., 1951, A gynandromorph of a predatory mosquito. *J. Ent. Soc. S. Afr.*, 14: 24-25 (*in* Zool. Rec., 88 (13): 188, 1951).

RINGS, R. W., 1946, Gynandromorphism in *Culex nigripalpus*, *J. Econ. Ent.*, 39 (3): 415.

ROTH, L. M., 1948, Mosquito gynandromorphs. *Mosquito News*, 8 (4): 168-173.

ROTH, L. M. & WILLIS, E. R., 1952, Notes on three gynandromorphs of *Aedes aegypti* (L.). *Proc. Ent. Soc. Wash.*, 54 (4): 189-193.

SHUTE, P. G., 1926, Intersexual form of *Ochlerotatus punctor* Kirby, var. *meigenanus*. *Entomologist*, 59: 12-13.

SMYLY, W. J. P., 1942, A gynandromorph of *Aedes aegypti L. (Stegomyia fasciata), Diptera, Proc. R. Ent. Soc. Lond.*, 17: 111-112.

WARREN, M. & HILL, S. O., 1947, Gynandromorphism in mosquitoes. *J. Econ. Ent.*, 40 (1): 139.

WEYER, F., 1938, Ein Zwitter von *Culex pipiens L. Zool. Anz.*, 123: 184-192.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 435-437
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

NOTA SÔBRE "ODONTOCERA CYLINDRICA" SERVILLE, 1833 (Col., Cerambycidae, Cerambycinae)[1]

DMYTRO ZAJCIW
Rio de Janeiro, Guanabara

Até hoje esta linda espécie é encontrada muito raramente nas coleções, na literatura tendo sido mencionada (além dos Catálogos) apenas duas ou três vêzes. Isto porque sabemos muito pouco sôbre seus caracteres específicos, assim como sôbre sua distribuição geográfica.

SERVILLE (1833) deu a seguinte descrição, muito curta:

"(Long. 6 lignes). Corps pointillé, d'un testacé ferrugineux. Tête, jambes et tarses noirâtres. Extrémité des élytres tronquée, noirâtre, ainsi que le bout de l'abdomen. — Du Brésil. — Corselet beaucoup plus long que large, un peu déprimé, plus ou moins inégal en dessus".

NEWMAN (1840) e WHITE (1855) nada acrescentaram à descrição e à distribuição. Enfim BATES (1873) concedeu a ela duas linhas, notando:

"Brazil. — It is not stated in the description that the elytra have vitreous disks; the position of the species is therefore doubtful".

Durante nossas excursões nos arredores do Rio de Janeiro, conseguimos apanhar duas fêmeas, além disso, tivemos a oportunidade de estudar mais 7 exemplares, dois machos e uma fêmea da coleção do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas e dois casais da coleção do Dr. C. A. Campos Seabra. Como resultado, podemos apresentar mais amplos, os caracteres da espécie, esclarecer as dúvidas de BATES sôbre a posição sistemática e apontar as primeiras localidades de sua distribuição.

Redescrição da espécie — ♂ . Linear, tegumento geral testáceo-ferrugíneo com as seguintes partes mais ou menos escurecidas até pretas: cabeça, base das antenas, parte ântero-superior do protórax, apice dos élitros, pernas parcialmente, parte proximal do abdômen; parte apical das antenas parda até ferrugínea.

---

[1] Recebido para publicação a 23 de setembro de 1960.
Com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

Cabeça um pouco prolongada para diante, clípeo brilhante, com vários pontos e alguns pêlos ruivos; fronte com um sulco fino que atinge o início do vértice: olhos na face anterior muito aproximados, separados só pela estreita lista da fronte; vértice rugoso-pontuado, opaco, com um vestígio de carena mediana obsoleta mais brilhante. Antenas sobrepassam o ápice do 2.º segmento abdominal, na base finas, gradualmente engrossadas para o ápice; os primeiros artículos pilosos no lado inferior; escapo obcônico, finamente chagrinado, com vários pontos finos; art. 3.º cilíndrico, 4.º e 5.º ligeira e gradualmente engrossados para o ápice, 6.º-10.º angulosos no canto apical anterior interno, o último com um distinto apêndice cônico no ápice; art. 3.º é o mais comprido, o 4.º curto, com cêrca de 3/5 do comprimento do 3.º e cêrca de 3/4 do 5.º.

Protórax subcilíndrico, cêrca de 1 1/3 vêzes a largura na base, com os lados quase paralelos, com vestígios de constrição na base e perto da borda anterior; no disco com uma carena média longitudinal brilhante, subobsoleta, não sempre regular, mais ou menos visível e com 4 elevações muito pouco marcadas, quase obsoletas, as quais podem desaparecer completamente; tôda a superfície com pontuação grossa e irregular, os pontos ocelados, apresentando no centro uma cerdinha; prosterno na parte anterior transversalmente estriado, na parte posterior, antes das coxas, grossamente pontuado e coberto de pêlos cinzentos. Escutelo pequeno, subquandrangular, com ápice arredondado, coberto totalmente com pêlos amarelo-claros. Élitros atingem o meio ou quase o ápice do 4.º segmento abdominal, na base distintamente mais largos que o protórax; as últimas 3/5 partes do comprimento estreitadas, com lados subparalelos, desde o meio levemente deiscentes; no ápice obliquamente truncados para dentro; o disco muito brilhante, no meio pode ser quase vítreo, com pontos finos e não espessos, colocados mais ou menos seriadamente, os quais ao longo da margem externa e no ápice (precisamente no fundo prêto) tornam-se maiores e mais densos; com uma leve carena longitudinal, que se inicia obsoletamente junto com a parte estreita do élitro e torna-se mais desenvolvida para o ápice, aproximando-se da borda lateral do disco. Asas inferiores com reflexos rosados e verdes. Metatórax fortemente inchado, finamente pontuado, com uma depressão longitudinal no meio e coberto com pêlos gríseo-amarelo-claros. Fêmures anteriores e intermédios pedunculados na base a abruptamente alargados, os intermédios curvados na base, os posteriores quase retos, gradualmente clavados desde seu meio, atingindo a borda distal do 4.º segmento abdominal; tíbias posteriores alongadas, os tarsos posteriores com o 1.º artículo um pouco mais comprido que o 2.º e o 3.º em conjunto. Abdômen subcilíndrico, finamente chagrinado, com pontos finos e irregulares e pêlos da mesma côr que no metasterno; último segmento obcônico, com uma grande depressão arredondada, que ocupa quase tôda a superfície inferior do segmento, tendo os lados elevados, precisamente perto da borda posterior. Comprimento do corpo 7,5-8 mm.

♀ . Distingue-se pelos olhos bem afastados na frente, pela fronte mais larga, com pontos grossos, principalmente na sua parte superior, pelo abdômen mais

fusiforme, estreitado na base e no ápice e pelo último segmento abdominal mais ou menos chato, desprovido da larga depressão arredondada. Comprimento do corpo 8-9 mm.

O colorido, tendo o esquema geral da distribuição do pigmento prêto apontado na descrição acima, pode ser bem variável; antenas, quase sempre pretas na base e pardo-escuras na parte apical, mas alguns exemplares têm os ápices de côr ferrugínea; protórax de uma fêmea do Rio de Janeiro é testáceo-ferrugíneo-rufo; de outra fêmea, só com uma linha preta na parte anterior do disco; em outros exemplares o pigmento prêto ocupa quase tôda a superfície do protórax, deixando a base e parte central do prosterno testáceas; as pernas dos exemplares do Rio de Janeiro e de São Paulo são escurecidas totalmente, nos exemplares do Espírito Santo as anteriores e intermédias (ou só as partes delas) são claras (a borda externa das tíbias pode ser escurecida), as posteriores são pretas, só com o art. 3.º dos tarsos castanhos.

Sôbre a posição sistemática julgamos que a espécie em questão, tendo os élitros com a superfície bem brilhante e o metasterno inchado, até a revisão completa da tribo Rhinotragini, pode continuar a pertencer ao gênero *Odontocera* Serv., onde ela foi colocada pelo autor na descrição original.

A distribuição geográfica apresenta-se como: 1) Estado do Espírito Santo, Córrego do Itá, VI-1956, W. Zikán leg. (na coleção do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas) e XI-1956, W. Grossmann leg., (na coleção do Dr. C. A. Campos Seabra); 2) Distrito Federal, Rio de Janeiro, Corcovado, 27-X-1955 e 7-XI-1956, D. Zajciw leg. (na coleção do autor); e 3) Estado de São Paulo, Capital, Bosque da Saude, 6-XI-1921, J. Melzer leg. (na coleção do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas).

SUMMARY

Redescription of *Odontocera cylindrica* Serv., 1833 (male and female), the confirmation of its position in the genus *Odontocera* Serv., 1833 and the localities of its distribution.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bates, H. W., 1873, Notes on the Longicorn Coleoptera of Tropical America. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, (4) 11: 39.

Newman, E., 1840, Entomological Notes. *Entomologist*, 1: 22.

Serville, A., 1833, Nouvelle classification de la famille des Longicornes (Suite). *Ann. Soc. Ent. France*, 2: 548.

White, A., 1855, *Catalogue of Coleopterous Insects in the collection of the British Museum*. Part 8: 188. London.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 439-445
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

LEPTODESMIDAE BRASILEIRAS. VII. ESPÉCIES DO TRIÂNGULO MINEIRO (Diplopoda, Proterospermophora)[1]

OTTO SCHUBART
Estação Experimental de Biologia e Piscicultura, Piraçununga, S. Paulo

(Com 9 figuras no texto)

A instalação de um Pôsto de Piscicultura em Uberlândia deu ao meu amigo e seu chefe Guimará Alves de Oliveira, a oportunidade de reunir nas visinhanças do Pôsto, distante cêrca de 20 km ao E da cidade, algum material miriapodológico. Em seguida serão dadas as descrições de 4 espécies novas, encontradas nesta região, onde nunca havia sido colecionado material desta classe de artrópodos.

Xeneurydesmus g. n.

Com 20 segmentos. Tergitos sem sulco transversal. Carenas laterais estreitas, colocadas baixo. Poros nos 5.º, 7.º e 9.º — 19.º segmentos. Esternitos do ♂ no 5.º segmento com 2 pares de cones, no 6.º com 1 par anterior e nos pós-gonopodiais com 2 pares de protuberâncias na base das pernas. Do 1.º-30.º par de pernas do ♂ com palmilha tíbial.

Gonopódios: Coxa só com cerdas no lado dorsal, sem processo coxal. Prefêmur na mesma posição da coxa; processo prefemural formado de 2 fôlhas, sendo o posterior mais ligado com o telopodito simples.

Typus: *X. luridus* sp. n.

Pátria: Brasil, Triângulo Mineiro, Minas Gerais.

Posição do gênero: Conhecemos agora 3 gêneros brasileiros com uma distribuição dos poros igual a de *Eurydesmus*. Êste possui o solenomérito cheio de espículos e o tíbiotarso fissilobado. *Neocamptomorpha* e o novo gênero concordam na ausência dêsses caracteres. Mas *Neocamptomorpha* tem carenas laterais largas, tergitos com sulco transversal, esternitos do ♂ sem peculiaridades, os gonopódios com forte processo coxal, o processo prefemural simples, dobrado e o canal espermatóforo colocado no lado posterior.

---

[1] Recebido para publicação a 12 de outubro de 1960.
Trabalho realizado com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

No aspecto externo tem o novo gênero muita semelhança com *Pseudoeurydesmus,* mas êste possui os poros na distribuição comum.

Xeneurydesmus luridus sp. n.
(Figs. 1-3)

Descrição: ♂ ♂ 20 mm de compr., larg. do prozonito 3,3 mm, do metazonito 4,5 mm. ♀ 19 mm de compr., larg. do prozonito 3,5 mm, do metazonito 4,5 mm.

Pardacento, sendo as antenas e pernas acastanhadas e os artículos distais das primeiras amareladas.

Cabeça com sulco fraco no vértice e poucas cerdas na parte inferior do clípeo. *Collum* oval, nos lados apontados.

Prozonitos com chagrém longitudinal, metazonitos nos tergitos com chagrém e fracas impressões irregulares. Dorso curvado e as carenas laterais colocadas mais baixo. Ângulo anterior destas retangular arredondado, o posterior retangular nos segmentos prégonopodiais, depois prolongado num lobo triangular. Rebordo liso e fino nos segmentos áporos. Nos segmentos poríferos logo no início se dilatando numa bossa oval comprida, ficando menos larga nos segmentos posteriores. Poros nos 5.º, 7.º e 9.º — 19.º segmentos se abrindo lateralmente, distante da ponta final.

Telson sem peculiaridades.

Flancos com um retículo bastante forte. Carenas pleurais não destacadas.

Esternitos do ♂ no 4.º segmento com 2 pequenas e estreitas protuberâncias, no 5.º com 2 pares de cones denegridos, no 6.º com 1 par anterior. Esternitos pós-gonopodiais com 2 pares de pequenas protuberâncias na base das pernas, cobertas de cerdas, desaparecendo para trás.

Pernas do ♂: Coxa do 2.º par com largo processo interno com margem oblíqua. Já no 1.º par com palmilha tibial, atingindo nas pernas seguintes ca. 1/3 de comprimento da tíbia, presente até o último par, ainda com 1/5 do comprimento.

Gonopódios: Coxa oval, não saliente no lado externo; acima da base do grande solenito com 2 macrocerdas. Prefêmur quase quadrado, cêrca da metade com bossa coberta de cerdas finas; no lado externo com cêrca de meia dúzia de grandes cerdas; na região anterior têm origem as duas partes do processo prefemural. Uma fôlha anterior interna, com um lobo posterior na metade do seu comprimento e dividido em 2 processos dirigidos para fora. A outra fôlha é pouco maior, mais estreita, lanceolada. Na frente, formando um ângulo reto com o prefêmur, tem origem o próprio telopodito, o solenomérito, fôlha estreita, levemente sinuosa, com canal espermatóforo no lado anterior. Abaixo da abertura, munida de cerdas, encontra-se uma fina lâmina, cuja margem anterior é levemente serrilhada.

♀: Esternitos com 2 pares de cones na base das pernas, sendo o par posterior um pouco maior. Pernas sem peculiaridades.

Material: Um ♂ foi escolhido como *typus*, conservado como de costume, seus gonopódios e parte representativa das pernas montados na lâmina n.º 2.098 na coleção do autor.

Procedência: Minas Gerais, Uberlândia, perto do Pôsto de Piscicultura, 9-X-1959, 4 ♂ ♂, 1 ♀, leg. Guimará Alves de Oliveira.

Uberlandiodesmus g. n.

Com 20 segmentos. Tergitos sem sulco transversal. Carenas laterais relativamente largas, colocadas baixo. Poros na distribuição normal. Esternitos do macho nos 5.º e 6.º segmentos com 1 par anterior de cones, os pós-gonopodiais com 2 pares de pequenos cones. Pernas do ♂: Com intumescência dorsal no prefêmur. Botão prefemural e palmilha tibial do 1.º-30.º par de pernas presentes.

Gonopódios: Coxa larga, curta, só com 2 cerdas dorsais, sem processo coxal. Prefêmur na mesma direção da coxa. Processo prefemural simples. Telopodito na parte distal bifurcado com solenomérito e tíbiotarso. Na parte basal com grande processo prefemural.

Typus: *U. guimarai* sp. n.

Pátria: Brasil, Triângulo Mineiro, Minas Gerais.

Uberlandiodesmus guimarai sp. n.
(Figs. 4-5)

Descrição: ♂ 45 mm de compr., larg. do prozonito 5,9 mm, do metazonito 8,5 mm. ♀ 43 mm de compr., larg. do prozonito 6,5 mm, do metazonito 8,6 mm.

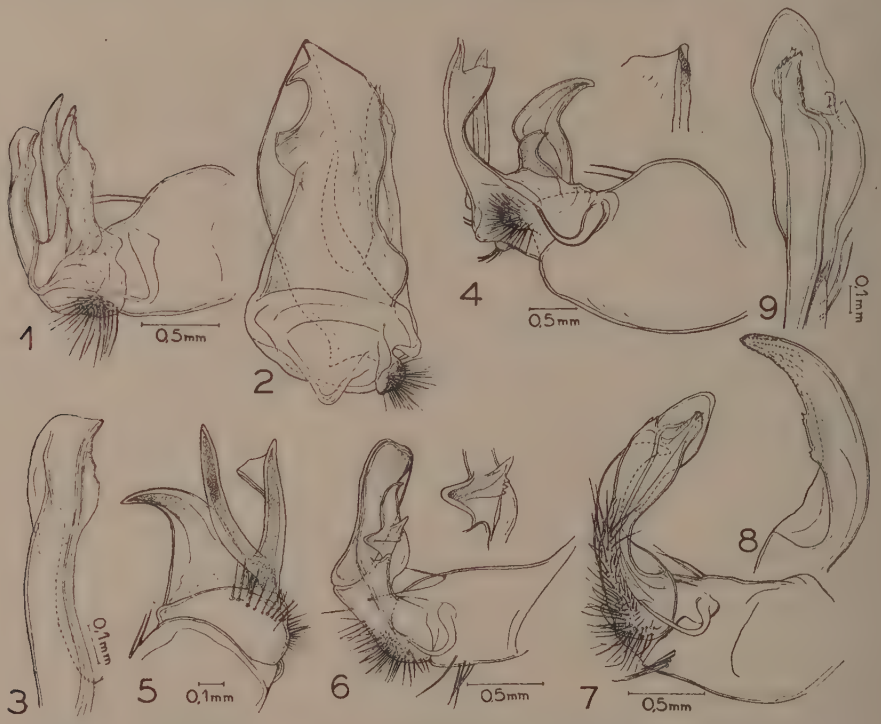
Pardo acinzentado; prozonitos, margem lateral das carenas e lado ventral mais claros. Tergitos na ♀ com a margem distal quase denegrida. Antenas e pernas pardo denegridas.

Cabeça com profundo sulco no vértice; clípeo e faces sem cerdas. *Collum* oval nos lados apontado e marginado.

Prozonitos com chagrém longitudinal, metazonitos com retículo forte. Tergitos bem curvados, com as carenas laterais colocadas baixo, seguindo a curvatura. Ângulo anterior retangular arredondado, ângulo posterior retangular, do 12.º segmento em diante com lobo triangular. Rebordo nos segmentos áporos largo, liso; nos segmentos poríferos com bossa oval comprida, situada no 3.º têrço do rebordo. Nos segmentos posteriores fica a bossa bem mais fina. O poro se abre lateralmente, no meio da bossa, aproximando-se nos segmentos posteriores mais à ponta final. As carenas laterais do 18.º e principalmente do 19.º segmento pouco desenvolvidas.

Flancos lisos. Carenas pleurais com crista curva, presente até o 17.º segmento.

Esternitos do ♂: No 4.º segmento com 1 par de protuberâncias, no 5.º com 1 par anterior de cones grandes, no 6.º com 1 par anterior de bossas grandes, tôdas cobertas de cerdas curtas, e 1 par posterior de intumescências; os pós-gonopodiais com 2 pares de pequenos cones na base das pernas.



Xeneurydesmus luridus sp. n. — Fig. 1: Gonopódio direito, vista mediana; fig. 2: processo prefemural e solenomérito do gonopódio esquerdo, vista oral; fig. 3: telopodito (= solenomérito), vista oral. *Uberlandiodesmus guimarai* sp. n. — Fig. 4: Gonopódio direito, vista mediana, parte distal do solenomérito mais aumentada; fig. 5: gonopódio direito, vista aboral, a coxa só parcialmente desenhada. *Goyazodesmus tridentatus* sp. n. — Fig. 6: Gonopódio direito, vista mediana, o processo secundário do processo prefemural mais aumentado. *Leptodesmus triangularis* sp. n. — Fig. 7: Gonopódio direito, vista mediana; fig. 8: processo prefemural, vista oral; fig. 9: telopodito do gonopódio esquerdo, vista oral.

Pernas do ♂ muito grossas, no lado interno fortemente cobertas de cerdas. Coxa do 2.º par com largo e baixo processo distal interno. Prefêmur com nítida intumescência externa, ficando menos pronunciada nos pares posteriores. Botão prefemural do 2.º até o último par presente. Palmilha tibial larga, curta, no 1.º par ca. 1/3, nos seguintes 2/3 e no último par ainda larga, abaulada e 1/2 do comprimento do tarso.

Gonopódios: Coxa oval, larga, com 2 cerdas no lado dorsal; sem processo coxal, solenito de tamanho regular. Prefêmur quase retangular, na mesma direção da coxa. Com grande bossa interna coberta de cerdas. Na parte anterior tem origem o processo prefemural, uma fôlha larga, que dobra para frente e

possui na base uma pequena lâmina secundária. Na parte posterior inicia-se o fêmur, que depois de um estreitamento se dilata e bifurca no solenomérito e no tíbio-tarso, sendo o último mais estreito e mais comprido. Não muito distante da base do fêmur tem origem um comprido e ponteagudo processo femural.

♀: Flancos rugosos, com carenas pleurais menos salientes, visíveis até o 15.º segmento. Com 2 pares de cones pequenos nos esternitos. As pernas sem peculiaridades, porém menos grossas, com numerosas cerdas.

Material: O único ♂ e seus gonopódios, conservados em álcool, parte representativa das pernas montadas na lâmina n.º 2.042 na coleção do autor. A espécie foi dedicada ao seu colecionador, Sr. Guimará Alves de Oliveira, hoje chefe do Pôsto de Piscicultura na cidade de Uberlândia.

Procedência: Minas Gerais, Uberlândia, perto do Pôsto de Piscicultura, 28-XI-59, 1 ♀ leg. Guimará Alves de Oliveira; id., 29-XI-59, 1 ♂, leg. G. A. de Oliveira.

Goyazodesmus tridentatus sp. n.
(Fig. 6)

Descrição: ♂ 28 mm de compr., 2,9 mm de larg. do prozonito, do metazonito 3,9 mm. ♀ ♀ 27-30 mm de compr., 3,5-3,7 mm de larg. do prozonito, do metazonito 4,5-4,7 mm.

Castanho avermelhado, sendo a região anterior dos prozonitos e a posterior dos metazonitos mais amareladas. Antenas e pernas levemente acastanhadas.

Cabeça no vértice com sulco fundo, que atinge a altura da base antenal. Entre as antenas 1 + 1 cerdas, abaixo das mesmas 1 + 1 cerdas mais distantes entre si e algumas cerdas na parte inferior do clípeo. Faces sem cerdas. *Collum* semilunar, nos lados marginado e na margem posterior encurvado.

Prozonitos e metazonitos lisos. Dorso pouco curvado, carenas laterais, colocadas alto. Ângulo anterior nos primeiros segmentos retangular arredondado, depois ficando a margem lateral oblíqua e iniciando-se logo na base. Ângulo posterior retangular, só nos 17.º e 18.º segmentos salienta-se a bossa para trás. Rebordo nos segmentos áporos fino, ficando sempre mais grosso na parte distal; nos segmentos poríferos dilata-se o fino rebordo no último têrço numa pequena bossa oval, que fica menos larga na parte posterior do corpo. A bossa do 19.º de tamanho reduzido.

Os flancos lisos, com alguns sulcos oblíquos perto da margem posterior dos metazonitos. Carenas pleurais com fina e lisa crista, curvada e com saliência dentiforme nos primeiros segmentos, depois ficando mais fina e oblíqua; ainda com vestígios no 14.º segmento.

Telson sem peculiaridades.

Esternitos do ♂ no 4.º segmento com 1 par de pequenas bossas estreitas, no 5.º com 1 par anterior de pequenos cones e 1 par posterior de fracas protuberân-

cias, no 6.º com 1 par anterior de protuberâncias maiores, nos pós-gonopodiais sem peculiaridades, finamente estriados.

Pernas do ♂ relativamente finas e compridas. A coxa do 2.º par com largo processo interno, com a margem oblíqua. Botão prefemural nítido, presente do 2.º até o 20.º par. Palmilha tibial muito pequena, começa no 2.º par e visível até 12.º par, só atingindo 1/6 do comprimento do tarso.

Gonopódios: Coxa oval comprida, só cobrindo a parte basal do prefêmur. Processo coxal comprido ponteagudo, solenito fino. No lado dorsal com 1, no lado ventral com 4 cerdas. O comprido prefêmur forma um ângulo obtuso com a coxa. Na parte anterior origina o processo prefemural, fôlha curvada, com processo secundário triangular, dirigido para a frente e munido com 3 dentinhos. O telopodito nìtidamente separado do prefêmur, formando uma fôlha comprida e curvada para trás e na parte distal para dentro, percorrido pelo canal espermatóforo no lado posterior e terminando em 2 pequenas pontas divergentes.

Material: O único ♂, o *typus*, guardado e conservado como de costume; na lâmina n.º 2.097 foram montados os gonopódios e parte representativa das pernas. O nome é dado por causa dos 3 dentes no processo secundário do processo prefemural.

Procedência: Minas Gerais, Uberlândia, Pôsto de Piscicultura, X-59, 1 ♀, leg. Guimará Alves de Oliveira; — id., 1-XI-59, 1 ♂, 1 ♀, leg. Guimará Alves de Oliveira.

Leptodesmus triangularis sp. n.
(Figs. 7-9)

Descrição: ♂ ♂ 33-43 mm de compr., larg. do prozonito 3,2-3,6 mm, do metazonito 4,1-4,9 mm. ♀ ♀ 35 mm de compr., larg. do prozonito 3,5-3,8 mm, do metazonito 4,8-4,9 mm.

Espécie marron avermelhada, sendo a bossa e a parte distal das carenas laterais esbranquiçadas. Cabeça e os primeiros segmentos vermelhos; labro, lado ventral, antenas e pernas amareladas. Um outro ♂ e algumas ♀ ♀ marron avermelhados, sendo os prozonitos mais escuros e o rebordo mais claro; pernas e antenas amareladas acastanhadas. Um ♂ cárneo claro.

Cabeça com sulco no vértice; entre a base das antenas com 1 + 1 cerdas pequenas, no clípeo 1 + 1 maiores e mais distantes entre si; parte inferior do clípeo e labro com algumas cerdas.

Na morfologia muita semelhança com *L. godoii*.

Carenas pleurais nos primeiros segmentos curvas e bastante rugosas, depois ficando menos curvas, finas, visíveis até o 14.º segmento.

Esternitos do 4.º segmento com 2 pequenas protuberâncias, do 5.º com 1 par de grandes e escuras bossas coniformes e 1 par posterior de protuberâncias, do 6.º com 1 par anterior de bossas avermelhadas. Os esternitos pós-gonopodiais com 2 pares de pequenos cones na base das pernas, ausentes no 18.º esternito.

Pernas: Coxa do 2.º par com processo interno triangular. Palmilha tibial presente já no 1.º par, no 2.º atingindo 1/2 do comprimento do tarso, nos pós-gonopódios diminuindo, no 25.º só 1/5 e ausente nos últimos 3 pares.

Gonopódios: Coxa comprida, saliente na parte distal. Com 2 cerdas acima da base do processo coxal, de tamanho médio; no lado ventral com 4 cerdas colocadas numa linha oblíqua. Solenito pequeno. Prefêmur oval, estreitando-se na parte distal, com cerdas grandes até o início do telopodito. Processo prefemural é um curvado ramo, levemente serrilhado no lado côncavo e coberto de pequenos espículos no último quinto. O telopodito é maior que o processo prefemural, separado no estreito solenomérito com dentição na margem distal e com uma área comprida de pequenas cerdas na abertura do canal espermatóforo, e no tíbiotarso. Uma lâmina ponteaguda aliás acompanha a região femural. O lobo largo e oval, que se projeta no lado externo acima do solenomérito, representa o tíbiotarso.

Material: O ♂ de IV-59 foi escolhido como *typus*, conservado e guardado como de costume. Os gonopódios e uma parte representativa das pernas estão montados nas lâminas n.º 2.095 e 2.096.

Procedência: Minas Gerais, Uberlândia, perto do Pôsto de Piscicultura, 5-IV-59, 1 ♂, embaixo de cisco, leg. Guimará Alves de Oliveira; — id., 25-X-59, 2 ♀♀, leg. G. A. de O.; — id., X-59, 1 ♂, leg. G. A. de O.; — id., 1-XI-59, 1 ♀, leg. G. A. de O.; — id., 5-XI-59, 1 ♂, leg. G. A. de O.; — id., 11-XI-59, 1 ♂, leg. G. A. de O.

Justificação: O *Leptodesmus godoii* se distingue pelo corpo mais robusto, pela margem distal cárnea muito clara no *collum* e nos primeiros segmentos como também, porém menos distanciada, nos demais segmentos, e na parte distal da bossa respectiva do rebordo, pelas carenas pleurais mais fortes e salientes num dente nítido. O caráter principal existe nos gonopódios, como se pode verificar na comparação das figuras, dadas para as duas espécies.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 447-451
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

ISOLAMENTO E MANUTENÇÃO DO "STRONGYLOIDES RATTI" (SANDGROUND, 1925) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO[1]

Z. BRENER e G. CHAIA
Instituto Nacional de Endemias Rurais, Belo Horizonte, Minas Gerais

Apesar da importância crescente da estrongiloidose humana em nosso meio, são poucos os trabalhos experimentais que procuram estudar os diferentes aspectos dessa parasitose. A vantagem do uso, para alguns dêsses estudos, de um animal de pequeno porte em vez de macacos e cães é indiscutível, sobretudo no que se refere a trabalhos de terapêutica experimental. No presente trabalho são referidos o isolamento de uma amostra de *S. ratti* a partir de *Rattus rattus norvegicus* naturalmente parasitados e a sua manutenção em condições de laboratório. São feitas referências à associação freqüente, nesses roedores, de um tricostrongilídeo, o *Nippostrongylus muris* (Yokogawa, 1920), cuja transmissão se faz igualmente por larvas eliminadas nas fezes e que pode causar dificuldades no isolamento do *S. ratti*. Finalmente, são relatados alguns resultados obtidos com o iodeto de ditiazanina na estrongiloidose experimental do rato.

Ciclo evolutivo do S. ratti — A infestação dos roedores por larvas filarióides se faz por penetração através da pele ou por injeção subcutânea das mesmas. Após a fase de migração pulmonar as fêmeas partenogenéticas vão se localizar nas primeiras porções do intestino delgado. Segundo SHELDON (1937) a duração do período pré-patente da infestação é de 3,8 dias. As fêmeas põem ovos já contendo larvas rabditóides que são encontradas nas fezes a partir do 4.º dia de inoculação. Ainda segundo SHELDON (1937), a duração do período patente é de 98,2 dias. A variação do número de larvas eliminadas diàriamente é muito grande, sobretudo quando a contagem é feita individualmente, e um cálculo acurado do número de fêmeas partenogenéticas não pode ser feito através da determinação do número de larvas.

Em condições de laboratório, fezes de animais inoculados podem ser cultivadas em carvão, obtendo-se larvas filarióides infectantes em 48 a 72 horas.

---

[1] Recebido para publicação a 6 de outubro de 1960.

MATERIAL, MÉTODOS E RESULTADOS

Foram capturados, no bairro Nova Suissa (Belo Horizonte), 10 exemplares de *Rattus rattus norvegicus,* na totalidade dos quais o exame de fezes pelo método de sedimentação em água de torneira revelou a presença de ovos e larvas de *S. ratti*. Em 3 exemplares autopsiados o exame do intestino delgado pelo método descrito por McGee, Russomanno & Sandground (1957) comprovou a presença de fêmeas partenogenéticas de *S. ratti* e ainda revelou a existência de exemplares de *Nippostrongylus muris* (Tabela 1).

TABELA I

Número de exemplares adultos de S. ratti e N. muris encontrados em Rattus rattus norvegicus naturalmente parasitados

RATO N.º	*S. ratti*	*N. muris*
1	152	98
2	20	62
3	11	70

Obtenção de larvas filarióides de S. ratti — Exemplares de roedores naturalmente parasitados são colocados em gaiolas de modo a permitir a coleta de fezes em cubas esmaltadas revestidas de papel de filtro umedecido. Após algumas horas os fragmentos de fezes são recolhidos, macerados em uma placa de Petri e misturados a um volume aproximadamente igual de carvão granulado, ativado ("charcoal bone"). Antes de ser misturado às fezes, o carvão deve ser cuidadosamente lavado por sedimentações sucessivas em água de torneira para eliminação de pequenas partículas. A placa de Petri contendo a mistura de fezes e carvão é deixada no escuro, à temperatura ambiente, durante 48 a 72 horas, tempo exigido para a transformação das larvas rabditóides em filarióides.

A obtenção de larvas filarióides a partir de fezes de ratos brancos de laboratório experimentalmente inoculados, para passagens sucessivas, era realizada seguindo-se a técnica acima descrita.

Isolamento e inoculação das larvas filarióides — As larvas são isoladas pelo método de Baermann. A fim de evitar a contaminação maciça da suspensão de larvas por partículas de carvão o material deve ser colocado sôbre um tecido de malhas estreitas. Após 30-45 minutos recolhe-se o material sedimentado contendo as larvas e faz-se a contagem das mesmas por amostragem. Para manutenção da amostra, ratos brancos pesando 100-150 g são inoculados por via subcutânea com 500 a 2.000 larvas. Segundo foi dito, as larvas rabditóides aparecem nas fezes a partir do 4.º dia e podem ainda estar presentes após 3 a 4 meses (Sheldon, 1937); entretanto, o número de larvas tende a decrescer após 20-30

dias, de modo que é recomendável fazer-se nova coleta de fezes para isolamento de larvas antes dêste período.

Isolamento e contagem das fêmeas partenogenéticas — Os vermes localizados nos primeiros 20 cm do intestino delgado são obtidos empregando-se a técnica de McGee, Russomanno & Sandground (1957) e contados à lupa. Na Tabela 2

TABELA 2

Número de fêmeas partenogenéticas recuperadas após inoculação de 500, 800, 1000 e 2000 larvas filarióides de S. ratti

NÚMERO DE LARVAS INOCULADAS	NÚMERO DE FÊMEAS RECUPERADAS						Média
	Ratos números						
	1	2	3	4	5	6	
500.....	57	26	53	64	40		48(9,6%)
800.....	108	23	79	37	10	76	55(6,8%)
1 000.....	54	60	31	53	38	80	53(5,3%)
2 000.....	165	61	53	102	266	136	130(6,5%)

estão os resultados obtidos em séries de ratos brancos inoculados por via subcutânea com um número variável de larvas filarióides.

Em uma série de animais sacrificados 45 dias após a inoculação a percentagem de fêmeas recuperadas foi de 0,2% indicando, aparentemente, eliminação espontânea das fêmeas parasitas.

TABELA 3

Número de fêmeas partenogenéticas recuperadas em ratos contrôles e em tratados pelo iodeto de ditiazanina (50 mg/kg, 5x, via oral)

RATO N.º	NÚMERO DE FÊMEAS RECUPERADAS	
	Tratados	Controles
1.....	61	54
2.....	0	60
3.....	2	31
4.....	7	53
5.....	3	38
6.....	10	80
7.....	0	21
8.....	16	88
9.....	0	
MÉDIA.....	11	53

Terapêutica experimental da estrongiloidose — 20 ratos, pesando 150-200 g, foram inoculados por via subcutânea com 1.000 larvas filarióides de *S. ratti*. No 8.º dia, constatada a infestação através da presença de larvas rabditóides nas fezes, os animais foram divididos em dois grupos de 10. Ratos de um dos grupos receberam iodeto de ditiazanina na dose de 50 mg/kg, dados diàriamente de uma só vez, durante 5 dias consecutivos, por via oral através de sonda. Diàriamente as fezes dos animais contrôles e dos tratados eram coletadas e submetidas ao método de Baermann para isolamento das larvas rabditóides. No 5.º dia após o tratamento os animais foram sacrificados e as fêmeas partenogenéticas recuperadas da maneira já descrita. Na Tabela 3 estão expostos os resultados obtidos, verificando-se uma redução altamente significativa do número de vermes no grupo tratado em relação ao contrôle ($P<0{,}001$). A partir do 3.º dia de tratamento foi observada ausência de larvas rabditóides no grupo tratado, que se prolongou até o dia em que foram sacrificados; no grupo contrôle a eliminação de larvas foi constante até a data do sacrifício, embora o seu número tenha sofrido variação acentuada nas diferentes contagens realizadas.

DISCUSSÃO

Embora o isolamento do *S. ratti* a partir de roedores naturalmente parasitados seja relativamente fácil, a sua associação com o *Nippostrongylus muris* pode constituir uma dificuldade adicional, já que, como foi visto, a transmissão dêste último parasito faz-se também por larvas eliminadas com as fezes. Entretanto, o fato de no *S. ratti* a transformação das larvas rabditóides em filarióides realizar-se em cêrca de 3 dias permite, nas infestações associadas, isolar aquela espécie do *N. muris*, no qual a mesma transformação requer um período maior que 7 dias. Em nossas experiências, o uso de culturas de fezes com 48-72 horas permitiu excluir a infestação pelo *N. muris*.

O isolamento, nas infestações associadas, do *N. muris*, é dificultado pela persistência, nas culturas, de larvas filarióides de *S. ratti* mesmo após 10 dias; essa persistência das formas infestantes é provàvelmente devida à instalação de um ciclo de vida livre nas condições de cultura. Assim sendo, o isolamento do *N. muris*, parasita freqüentemente usado em terapêutica experimental para "screening" de drogas a serem usadas em ancilostomose, só pode ser feito a partir de roedores parasitados ùnicamente por essa espécie ou, talvez, de infestações associadas, pelo tratamento prévio da estrongiloidose.

Apesar da introdução do iodeto de ditiazanina ter representado um grande avanço no tratamento da estrongiloidose, a realização de testes terapêuticos em animais de laboratório experimentalmente inoculados continua sendo de grande importância, quer para elucidação do mecanismo de ação dos medicamentos ativos, quer para a introdução na prática clínica de compostos ativos desprovidos das desvantagens do iodeto de ditiazanina. É interessante recordar que a ação da ditiazanina na estrongiloidose foi detectada em ratos brancos experimen-

talmente inoculados com *S. ratti* (SWARTZWELDER et al., 1958). No teste terapêutico por nós realizado, além da nítida redução do número de vermes no grupo tratado, julgamos digno de nota o desaparecimento das larvas rabditóides das fezes até a data em que os animais foram sacrificados, não obstante a persistência de fêmeas partenogenéticas vivas.

SUMÁRIO

São descritos a técnica seguida para o isolamento de uma amostra de *Strongyloides ratti* a partir de *Rattus rattus norvegicus* naturalmente parasitados, assim como os métodos usados para a sua manutenção em condições de laboratório. Nos roedores naturalmente parasitados a associação pelo *Nippostrongylus muris* foi freqüente, sendo descrita a técnica usada para a obtenção, em ratos brancos, de infestação ùnicamente pelo *S. ratti*. Em um grupo de ratos brancos experimentalmente infestados a ditiazanina provocou uma redução significativa do número de vermes em relação aos contrôles.

SUMMARY

The technique used to isolate a strain of *Strongyloides ratti* from *Rattus rattus norvegicus* naturally infected is described along with the methods used to maintain this strain in white rats. In naturally infected rodents parasitism by *Nippostrongylus muris* was frequent and the procedure used for obtaining pure infections of *S. ratti* is reported. In white rats treated with dithiazanine a significant reduction of the number of worms was obtained.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MCGEF, G., RUSSOMANNO, R. & SANDGROUND, J. H., 1957, An expeditious method for counting trichostrongylids and other helminths of the small intestine. *J. Parasitol.*, 43: 315-317.

SHELDON, A. J., 1937, Some experimental studies on *Strongyloides ratti*. *Amer. J. Hyg.*, 25: 39-52.

SWARTZWELDER, J. C. *et alii*, 1958, Therapy of strongyloidiasis with Dithiazanine. *Arch. Int. Med.*, 101: 658-661.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 453-464
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

LEPTODESMIDAE BRASILEIRAS. VIII. NOVAS ESPÉCIES DO ESTADO DE SÃO PAULO (Diplopoda, Proterospermophora)[1]

OTTO SCHUBART
Estação Experimental de Biologia e Piscicultura, Piraçununga, S. Paulo

(Com 14 figuras no texto)

Em 1955 publicamos um apanhado das espécies paulistas da família Leptodesmidae, que abrangeu 8 gêneros e 59 espécies diferentes. Nos últimos anos foram ainda descobertas diversas formas novas, cuja descrição é dada em seguida. Aumenta assim o número de gêneros para 11 e o das espécies para 68 ocorrendo no Estado bandeirante.

Arthrosolaenomeris Schubart, 1943

Papéis Avulsos Zool. S. Paulo, 3 (8): 143.

A inclusão de uma terceira espécie descrita em seguida, exige uma pequena modificação da diagnose genérica. Processo prefemural com ou sem lâmina secundária, sendo originalmente escrito: "com lâmina secundária". Também será melhor desprezar a conclusão: "solenomérito na parte terminal encurvado para dentro".

Arthrosolaenomeris planaltensis sp. n.
(Figs. 1-2)

Descrição: ♂ 48 mm de compr., larg. do proz. 4,6 mm, do metaz. 7,0 mm. ♀ ♀ 50-53 mm de compr., larg. do proz. 5,5-5,9 mm, do metaz. 7,8-8,1 mm, juv. ♀ 19 segm. 35 mm de compr.

Castanho claro, com os prozonitos, a margem das carenas laterais, os flancos, o lado ventral e as pernas mais claras. Antenas só na parte distal dos artículos distais e no 7.º artículo castanhas.

---

[1] Recebido para publicação a 12 de outubro de 1960.
Trabalho executado com o auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

Cabeça ao lado da parte inferior do sulco no vértice com 2 + 2 cerdas, como aliás nas duas outras espécies. Clípeo com poucas cerdas na parte inferior. *Collum* mais largo que a cabeça, porém estreito no sentido longitudinal.

Dorso pouco curvado, as largas carenas laterais colocadas alto. Seu ângulo anterior retangular arredondado, o posterior retangular até o 14.º segmento, em seguida prolongado, aumentando sucessivamente. Rebordo dos segmentos áporos fino, dos poríferos com bossa oval na parte distal das carenas, ficando a mesma oval comprida nas posteriores. O pequeno poro se abre lateralmente, sempre distante do fim da bossa.

Flancos lisos. Carenas pleurais nos segmentos anteriores com crista curva granulada, ficando lisa nos posteriores, visível até o 16.º segmento.

Esternitos do ♂ no 4.º segmento com 1 par de pequenas tumescências, nos 5.º e 6.º com 1 par anterior maior e 1 par posterior menor e mais distanciado de bossas; os pós-gonopodiais só com escassas cerdas curtas.

Pernas do ♂: Coxa do 2.º par com largo e baixo processo triangular, prefêmur com forte tumescência externa que enfraquece nas posteriores; fêmur relativamente comprido. Palmilha tibial ausente.

Gonopódios: Coxa oval, na parte dorsal elevada, com cerdas compridas, na parte ventral com 4 cerdas em linha oblíqua, e a parte terminal do lado externo com muitas cerdas. Processo coxal ausente. Solenito delicado. Prefêmur estreito, com bossa interna coberta de cerdas. O processo prefemural, lâmina estreita, ponteaguda, origina-se logo na parte basal, com nítida saliência. Acima da macrocerda continua o prefêmur sem interrupção no curto fêmur, separado do telopodito. Êste, do comprimento do processo prefemural, se dilata na parte distal para terminar num processo dentiforme.

Na ♀ possuem os esternitos 2 pares de pequenos cones.

Material: O único ♂ da coleta n.º 3.295, foi escolhido como *typus*, conservado em álcool seus gonopódios e parte representativa das pernas montados na lâmina n.º 2.094, na coleção do autor. O nome foi escolhido devido a ocorrência no planalto paulistano.

Procedência — Estado de São Paulo: Fazenda São José do Varjão, ao leste da séde municipal (Mun. Monte Aprazível), 9-1-1953, 3 ♀♀, 1 juv. ♀, na mata em pau podre, leg. Sch. (col. n.º 3.288); Jaci (Mun. Mirassol), 11-I-50, 1 ♂, no pasto, sob troncos, leg. Sch. (col. 3.295).

Harpagodesmus g. n.

Corpo com 20 segmentos, com carenas laterais e poros na distribuição normal. Sem sulco transversal nos tergitos. Esternitos do ♂ no 4.º segmento com 1 par de pequenas tumescências, no 5.º com 2 pares e no 6.º com 1 par anterior de cones e os pós-gonopodiais com 2 pares de cones. Palmilha tibial do 1.º-27.º par de pernas. Gonopódios com processo coxal reduzido e com solenito grande. Prefêmur largo, oval, o processo prefemural em forma de lâ-

mina larga, estreitado na parte distal. No lado anterior-externo tem origem o telopodito, lâmina estreita, em cuja região basal existe um processo femural falciforme.

Genotypus: *H. simplex* sp. n.

Procedência: Região noroeste do Estado de São Paulo.

O nome genérico é escolhido por causa da forma do telopodito (*harpago* = arpão de abordagem).

Harpagodesmus simplex sp. n.
(Figs. 3-5)

Descrição: ♂ ♂ 30-35 mm de compr., larg. do proz. 4,5-4,6, do metaz. 6,2-6,6 mm. ♀ 35 mm de compr., larg. do proz. 4,9 mm, do metaz. 6,3 mm.

Castanho pardacento claro, porém a parte anterior dos prozonitos e nas carenas laterais mais claro. Antenas mais escuras, pernas da côr do corpo.

Cabeça lisa, com sulco no vértice. Com poucas cerdas na parte inferior do clípeo. Faces sem cerdas. *Collum* oval, nos lados estreitado, anteriormente marginado.

Dorso bastante curvo, carenas laterais estreitas, dirigidas para baixo. O seu ângulo anterior retangular arredondado, ângulo posterior também retangular, com pequena ponta do 5.º segmento em diante, mas só nos 5 últimos segmentos prolongado. Rebordo dos primeiros segmentos dilatado distalmente, nos demais fino; nos poríferos com bossa oval comprida, na qual se abre, distante da ponta final, o pequeno poro.

Carenas pleurais com crista curvada, bem visível até o 16.º segmento.

Esternitos do ♂ no 4.º segmento com 1 par de pequenas protuberâncias, no 5.º com 2 pares de cones, sendo o posterior mais alto; no 6.º com 1 par anterior de cones altos; nos pós-gonopodiais com 2 pares de cones na base das pernas, tendo só vestígios nos últimos 4 segmentos.

Pernas do ♂: Coxa do 2.º par com pequeno processo triangular. Palmilha tibial começa já no 1.º par, ca. 1/2 do comprimento do tarso, nos pós-gonopodiais diminuindo, no 21.º cêrca de 1/6 e no 27.º tendo ainda vestígios.

Gonopódios: Coxa com processo coxal muito curto, perto do mesmo com 2 cerdas dorsais. Solenito grande. Vide a diagnose genérica e as figuras dos gonopódios.

Material: O ♂ da coleta 3.291 foi escolhido como *typus*, conservado na coleção do autor. Os gonopódios e parte representativa das pernas estão montados na lâmina n.º 2.093.

Procedência: Estado de São Paulo: Fazenda São José do Varjão (Mun. Monte Aprazível), 9-I-50, 1 ♂, 1 ♀, no pasto sob coqueiros, na visinhança de manchas de mata, leg. Sch. (col. 3.291); Monte Aprazível, 10-I-50, 1 ♂, num pasto ao lado do Corgo do Espraiado, sob troncos de árvores, leg. Sch. (col. 3.293).

Sôbre uma anomalia: O ♂ da coleta 3.293 não possui pernas no 5.º segmento, no 6.º no lado direito só existe a 7.ª perna; também os cones faltam no 5.º esternito e no 6.º existe só um cone diminuto no lado esquerdo.

Leptodesmus rubicundus sp. n.
(Figs. 6-7)

Descrição: ♂ 45 mm de compr., larg. do proz. 4,5 mm, do metaz. 6,3 mm. ♀ ♀ 50 mm. de compr., larg. do proz. 4,9-5,2 mm, do metaz. 6,3-6,7 mm.

Avermelhado vivo, quase "scarlet-orange" (SEGUY n.º 181). A margem distal dos metazonitos mais clara. Antenas e pernas castanhas, sendo os 2 artículos basais das últimas como os esternitos encarnados (SEGUY n.º 205 ou 200); numa ♀ os esternitos são avermelhados, os artículos basais quase alaranjados.

Cabeça com nítido sulco no vértice. Na parte inferior do clípeo com algumas cerdas compridas. *Collum* oval.

Prozonitos com chagrém longitudinal; metazonitos com chagrém menos acentuado e com sulcos longitudinais na região anterior. Dorso pouco curvo, com carenas laterais colocadas alto, levemente curvadas. Os ângulos dos primeiros segmentos arredondados, do 5.º em diante com o ângulo anterior oblìquamente arredondado. A margem lateral pouco curvada e o ângulo posterior só nos últimos segmentos nìtidamente prolongado num pequeno triângulo. Poros abrindo-se lateralmente na parte distal das bossas estreitas. A bossa lateral dos segmentos áporos mais estreita e fina. O corpo se estreita ràpidamente nos últimos 3 ou 4 segmentos.

Carenas laterais em forma de crista curva e serrilhada ficando sucessivamente mais fraca e desaparecendo no 13.º segmento. Os flancos dos últimos segmentos com finos sulcos curvos perto da margem distal.

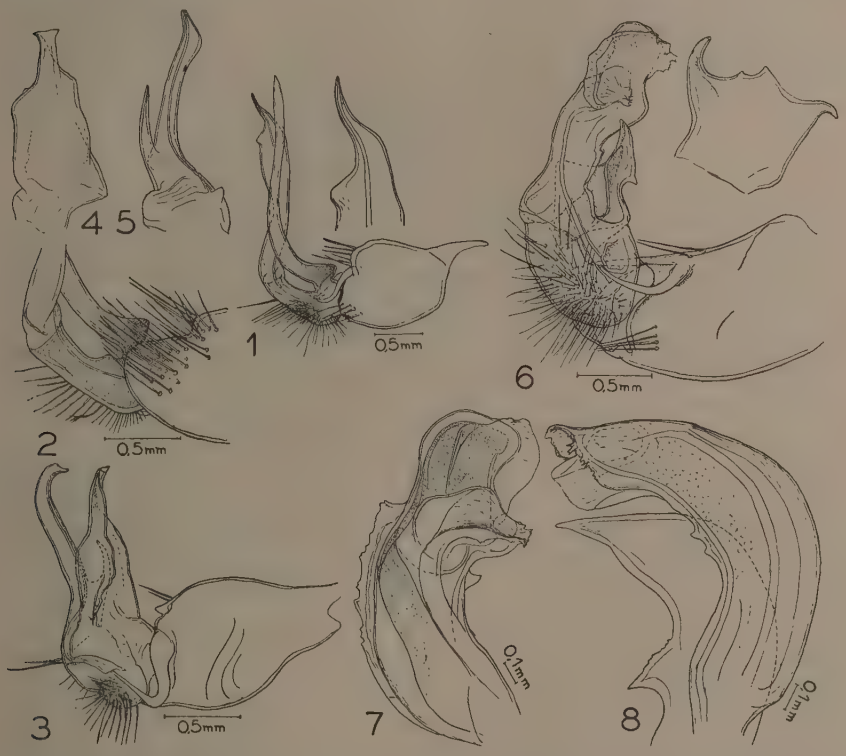
Telson com o processo distal do segmento pré-anal curvado para baixo. A margem das válvulas anais bem elevada.

Esternitos do ♂: O 5.º com 1 par anterior de bossas altas e 1 par posterior de baixas; o 6.º com 1 par anterior de grandes bossas abauladas, avermelhadas. Os esternitos pós-gonopodiais com leve estrutura longitudinal e pequeno cone na base das pernas.

Pernas do ♂: Com nítida palmilha tibial branca, de forma oval, que começa no 2.º par, ficando na parte posterior do corpo menor e ausente nos 2 últimos pares. Prefêmur com botão, excepcionalmente já visível no 1.º par, saliente nos seguintes e ausente nos 2 últimos pares. A coxa do 2.º par com curto processo interno, triangular.

Gonopódios: Coxa comprida, com solenito fino e com comprido processo coxal. Com 2 cerdas acima do mesmo e 4 cerdas na parte distal-interna da coxa. Prefêmur oval comprido, porém menor que o telopodito, formando um ângulo obtuso com o último. O processo prefemural é formado de uma fôlha curta, truncada, prolongada em processos dentiformes nas partes basal e distal.

A parte femural é levemente sinuosa, munida no lado posterior de uma crista dentilhada. Na parte distal tem origem o próprio solenomérito, lâmina curta, estriada, com pequenos dentinhos na parte distal e com um triangular na base. A parte distal arredondada do telopodito, situada acima do solenomérito, corresponde ao tíbiotarso.



Arthrosolaenomeris planaltensis sp. n. — Fig. 1: Gonopódio direito, vista mediana, a parte distal do solenomérito mais aumentada; fig. 2: parte distal da coxa e o prefêmur com a base do telopodito e o processo prefemural, vista externa. *Harpagonodesmus simplex* sp. n. — Fig. 3: Gonopódio direito, vista mediana; fig. 4: processo prefemural, vista oral; fig. 5: telopodito com o processo femural. *Leptodesmus rubicundus* sp. n. — Fig. 6: Gonopódio direito, vista mediana, o processo prefemural em posição diferente, mais aumentado; fig. 7: telopodito, vista oral. *Leptodesmus bidenticulatus* sp. n. — Fig. 8: Telopodito, vista oral.

Material: O tipo está guardado em álcool, os seus gonopódios e parte representativa das pernas montadas em lâminas. O nome foi derivado da côr vermelho vivo.

Procedência — Estado de São Paulo: São Paulo, capital, bairro dos Campos Elíseos, 4-XI-1955, 1 ♀, no pequeno jardim do Departamento de Botânica, cedo caminhando, leg. Prof. Mário G. Ferri; id., II-1956, 1 ♂, leg. M. G. Ferri; id., 29-IX-56, 1 ♀, caminhando cedo na mesma localidade, leg. Aylton B. Joly.

Justificação: Na construção dos gonopódios existe uma grande semelhança com as espécies *L. dentellus, limbatus, cristulatus,* etc., mas o prefêmur é na espécie nova bem menor, só atingindo a metade do telopodito, enquanto nas espécies do mencionado grupo o comprimento do prefêmur é igual ou bem maior que o do telopodito. Assim *L. rubicundus* não pode ser incluido no Grupo F. (vide SCHUBART, 1955 : 516).

Seria também possível, modificar o conceito do grupo F e poder reunir desta maneira a nova espécie.

Leptodesmus bidenticulatus sp. n.
(Fig. 8)

Descrição: ♂ 40 mm de compr., larg. do proz. 4,3 mm, do metaz. 5,8 mm. ♀ ♀ 45 mm de compr., larg. do proz. 5 mm, do metaz. 6,0 mm. Juv. ♂ 19 segm., 24 mm; juv. ♂ ♀ 18 segm., 13-14 mm de compr., juv. ♀ 17 segm., 8 mm de compr.

Marron avermelhada, com a margem distal dos tergitos fracamente amarelada como também a parte distal da bossa, a margem anterior dos prozonitos e o lado ventral. Antenas e pernas castanhas amareladas.

Cabeça com fundo sulco no vértice, algumas cerdas na parte inferior do clípeo e 1 + 1 cerdas entre a base antenal. *Collum* marginado no lado.

Tergitos pouco curvados, lisos, com as carenas laterais colocadas alto. Ângulo anterior destas retangular nas primeiras, depois retangular arredondado e finalmente oblíquo. Ângulo posterior retangular arredondado, só nos últimos segmentos levemente prolongado. Rebordo nos segmentos áporos fino, pouco engrossado. Bossa porífera oval, ficando oval comprida na parte posterior do corpo, sempre limitado à metade posterior das carenas. O poro se abre numa escavação profunda perto da ponta. Flancos com algumas impressões curvas. Carena pleural com grossa crista curva, intumescida na parte anterior dos primeiros segmentos, ficando mais fina e visível até o 16.º segmento.

Esternito do ♂: O 4.º com 1 par de pequenas protuberâncias, o 5.º com 2 pares de bossas baixas, o 6.º com 1 par anterior de protuberâncias e os pós-gonopodiais com 2 pares de pequenos cones na base das pernas.

Pernas do ♂: Coxa do 2.º par com largo processo interno com margem distal oblíqua. Botão prefemural nítido, do 2.º-30.º par. Palmilha tibial já no 1.º par presente, atingindo 1/2 do comprimento do tarso, ausente nos últimos pares.

Gonopódios: Concordam na construção perfeitamente com os das demais espécies do grupo F, cuja espécie típica é *L. geniculatus* Schubart, caracterizado pelo prefêmur muito comprido. Processo prefemural semilunar, ponteagudo, com um lobo triangular, serrilhado no lado côncavo. O solenomérito terminando numa fôlha serrilhada e possuindo 2 dentes no lado côncavo. O tíbiotarso salienta-se com uma fôlha truncada.

♀: Esternitos com 2 pares de pequenos cones; pernas sem peculiaridades.

Material: Como *typus* foi escolhido o único ♂, conservado como de costume na coleção do autor. Os gonopódios e parte representativa das pernas, montados nas lâminas n.º 2.100 e n.º 2.101. O nome foi dado por causa dos 2 dentes no solenomérito.

Procedência — Estado de São Paulo: Fazenda São José do Varjão (Mun. Monte Aprazível), 9-I-50, 1 ♂, 2 ♀♀, no pasto na beira da mata, sob troncos, leg. Sch. (col. 3.291); id., 9-I-50, id., 1 juv. ♂ 19 segm., 1 ♀ morta, leg. Sch. (col. 3.287); id., 9-1-50, 5 juv. ♂, 4 juv. ♀ 18 segm., 1 juv. ♂ 17 segm., na mata, leg. Sch. (col. 3.289); Monte Aprazível (Mun.), 10-I-50, 1 ♀, num pasto sob troncos, leg. Sch. (col. 3.293); id., 10-I-50, 1 ♀ morta, id., leg. Sch. (col. 3.294).

Leptodesmus stimulatus sp. n.
(Fig. 9)

Descrição: ♂♂ 40-45 mm de compr., larg. do proz. 3,3-4,4 mm, do metaz. 4,4-5,8 mm. ♀ 38 mm de compr., larg. do proz. 4,0 mm, do metaz. 5,0 mm.

Espécie castanho amarelada, com a parte dos prozonitos e a margem posterior dos tergitos mais claras, como a metade posterior do rebordo respectivamente a bossa porífera. Esternitos, antenas e pernas castanhas amareladas. O 7.º artículo das antenas amarelo.

No hábito há bastante semelhança com *L. limbatus geniculatus* e *bidenticulatus*.

As carenas pleurais nos segmentos antigonopodiais com crista rugosa, depois lisa, curva, com uma tumescência na parte anterior e presente até o 15.º segmento.

Esternitos do ♂: O 4.º com 1 par de pequenos processos, o 5.º com 2 pares, sendo o anterior maior, largo e escuro, e o 6.º com 1 par anterior de largos processos.

Pernas do ♂: Os 1.º e 2.º pares fortemente cobertos de cerdas. A coxa do 2.º par com largo e curto processo interno, quase triangular. Do 2.º-30.º com botão prefemural, muito forte em quase tôdas as pernas com exceção das últimas. Palmilha tibial começa no 1.º par, arredondada larga, cêrca de 1/2 do comprimento da tíbia, diminuindo na parte posterior do corpo e ausente nos 2 últimos pares.

Gonopódios: Concordam na construção perfeitamente com os do grupo F. O próprio solenomérito é serrilhado na parte distal e possui no lado convexo um processo ponteagudo no último têrço. O tíbiotarso na base com lâmina serrilhada e na parte distal com outra truncada.

Material: Como *typus* foi escolhido o ♂ de Feiticeiro, guardado em álcool e os gonopódios e pernas representativas em lâmina.

Procedência — Estado de São Paulo: Feiticeiro (Mun. Sto. Anastácio), 20-I-50, 1 ♂, 1 ♀, no pasto sob troncos velhos, leg. Sch. (col. 3.315); Palmitalzinho, 28 km ao SW da vila (Mun. Sto. Anastácio), 19-I-50, 1 ♂, na mata, leg. Sch. (col. 3.313).

Leptodesmus laurinhoi sp. n.
(Figs. 10-12)

Descrição: ♂ 42 mm de compr., larg. do proz. 5,0 mm, do metaz. 6,0 mm. ♀ ♀ 40-50 mm de compr., larg. do proz. 6,3-6,6 mm, do metaz. 7,0-8,0 mm.

Marron avermelhado, as faces esbranquiçadas, os prozonitos avermelhados. *Collum* e os tergitos marginados de branco; rebordo resp. a bossa porífera das carenas, margem distal do segmento pré-anal, as válvulas e a placa subanal esbranquiçadas como também os flancos e os esternitos. Antena côr de salmão, o artículo basal amarelado. Pernas róseas, os 2 artículos basais esbranquiçados.

Cabeça com sulco no vértice, ao seu lado com 1 + 1 cerda, também 1 par entre a base das antenas. Clípeo com poucas, face só com 2 cerdas. *Collum* semilunar, com a margem posterior encurvada e marginado anteriormente.

Dorso pouco curvo, com as estreitas carenas laterais colocadas alto. Tergitos com fino chagrém, na parte distal com rugosidade longitudinal. Ângulo anterior retangular arredondado, ficando oblíquo na parte posterior. Ângulo posterior retangular, já no 7.º segmento com pequeno processo distal, que fica mais saliente nos últimos segmentos. Rebordo dos segmentos áporos fino, dos poríferos se dilatando no têrço posterior das carenas numa bossa oval, que fica menos grossa e mais comprida na parte posterior do corpo. Carenas do 17.º-19.º segmento pràticamente só formadas pela bossa porífera. Poros abrindo-se lateralmente numa escavação.

Flancos com fracos sulcos curvos. Carenas pleurais com crista rugosa, curvada, ficando lisa e menos saliente nos segmentos posteriores, visível até o 17.º segmento.

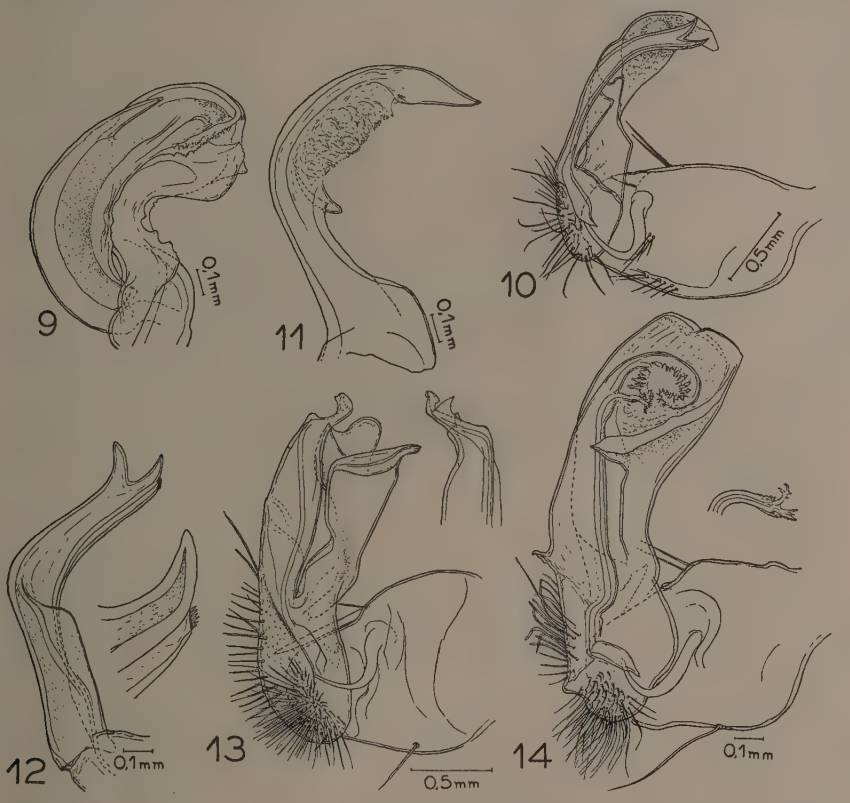
Esternitos do ♂: No 5.º segmento com 1 par anterior de cones, escuras na parte distal, e 1 par posterior de fracas intumescências; o 6.º só com 1 par anterior de intumescências; as pós-gonopodiais sem peculiaridades, finamente estriadas na parte posterior.

Pernas do ♂: Coxa do 2.º par com um baixo e largo processo triangular. Pequeno botão prefemural e palmilha tíbial do 2.º par em diante. A palmilha é pequena, só 1/5 do comprimento do tarso, no 10.º par 1/7 e no 16.º ainda vestígios.

Gonopódios: Coxa oval comprida, com 2 cerdas no lado dorsal, uma mancha de cerdas abaixo da base do solenito e 6 cerdas no lado ventral. Processo coxal curto. Prefêmur sem bossa interna. O processo prefemural é uma lâmina curvada, ponteaguda, que possui uma larga e comprida área coberta de pequenos espículos, limitada na base por um processo dentiforme curvado. A parte basal do telopodito dilatada por uma lâmina, correspondendo ao fêmur, depois continuando mais fino, separado na parte terminal, dividido num curto tíbiotarso e um semelhante solenomérito.

Material: O único ♂ foi escolhido como *typus* e tratado como de costume, seus gonopódios e parte representativa das pernas montados nas lâminas

n.º 2.089 e 2.090. O nome foi dado em homenagem ao Dr. Lauro Travassos Filho, a cujo esfôrço e dedicação se deve a incorporação da Estação Biológica da Boracéia ao acervo do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura.



Leptodesmus stimulatus sp. n. — Fig. 9: Telopodito, vista oral. *Leptodesmus laurinhoi* sp. n. — Fig. 10: Gonopódio direito, vista mediana; fig. 11: processo prefemural, vista aboral; fig. 12: telopodito, vista aboral, o solenomérito mais aumentado. *Leptodesmus muriensis* sp. n. — Fig 13: Gonopódio direito, vista mediana, o solenomérito em outra posição. *Pseudoeurydesmus urbanae* sp. n. — Fig. 14: Gonopódio direito, vista mediana a parte distal do solenomérito mais aumentada.

Procedência — Estado de São Paulo: Boracéia (Mun. Salesópolis), 1 ♀, 1-VI-47, leg. Lauro Travassos (RMS 120); id., 2 ♀♀, 20-XII-47, leg. P. Vanzolini; ib., 1 ♂, 5-II-59, numa valeta de pedra perto do Poço Preto, encontrado morto em fina lâmina d'água, leg. Sch. (Br. 2.089).

Leptodesmus pardalis sp. n.

Descrição: ♀ 48 mm de compr., larg. do proz. 4,4 mm, do metaz. 6,5 mm.

Marron. Cabeça marron avermelhada. Nos prozonitos 2 faixas ao lado da mediana, deixando uma mancha mediana triangular, dirigido com a ponta para trás. Nos tergitos ao lado uma mancha oval, que não atinge a margem

posterior e na parte distal uma pequena mancha de ocre claro. Antenas e pernas marron avermelhadas, sendo os artículos basais de ambas amareladas. Esternitos marron.

Cabeça com fundo sulco no vértice que está um pouco intumescido, liso. Clípeo com cerdas. *Collum* estreito no sentido longitudinal, nos lados ponteagudo; a margem posterior sinuosa. Clípeo com cerdas. *Collum* nos lados estreitado, com a margem posterior sinuosa.

Prozonitos e metazonitos com chagrém fino. Carenas laterais colocadas alto, horizontalmente. Tergitos com sulco transversal; na parte posterior com impressões longitudinais, principalmente na parte trazeira do corpo. Nos primeiros segmentos carenas puxadas para trás. Do 5.º em diante com ângulo retangular arredondado; o posterior retangular, só nos últimos prolongado. Rebordo nos segmentos sem poro pouco dilatado para trás; nos poríferos com lobo anterior, separado da bossa oval com o poro que se abre lateralmente; a bossa fica mais comprida nos segmentos posteriores e o lobo anterior menos saliente. As carenas laterais do 17.º já menos larga e sem incisão lateral.

Carenas pleurais curvas, rugosas nos segmentos anteriores, do 5.º em diante com fina crista lisa, levemente curva, visível até o 13.º segmento.

Esternitos da ♀ sem peculiaridade, com sulco transversal.

Telson sem peculiaridades.

♂ desconhecido.

Material: Excepcionalmente denominamos esta espécie sem conhecimento do ♂, porque o aspecto e a côr são peculiares e permitem o reconhecimento. A ♀ está conservada em álcool. O nome foi derivado da coloração.

Procedência — Estado de São Paulo: Sítio da Viúva Conde (Mun. Itanhaem), 9-IX-41, 1 ♀, numa roça nova no sopé da serra, leg. Sch. (col. 2.707).

Justificação: A comparação segura com outras espécies é por enquanto impossível. Pelo aspecto das carenas existe certa semelhança com *L. rubescens* Gerv., mas a pesar disso pode esta forma ser um representante de um grupo bem diferente.

Leptodesmus muriensis sp. n.
(Fig. 13)

Descrição: ♂ 36 mm de compr., larg. do proz. 3,6 mm, do metaz. 5,0 mm.

Castanho avermelhado, sendo as faces, os flancos e o lado ventral cárneos claros. Margem distal dos metazonitos escura. Antenas e pernas na parte distal um pouco mais avermelhadas.

Cabeça no vértice com fundo sulco que é limitado por pequeninos sulcos transversais. Clípeo com poucas cerdas na parte inferior e só com 2 no lado inferior das faces. *Collum* semilunar, encurvado na margem distal e marginado nos lados.

Prozonitos com forte chagrém longitudinal e tergitos com reticulado forte. Dorso curvado com as carenas laterais estreitas, colocadas alto. Carenas laterais

com ângulo retangular arredondado nos primeiros segmentos, depois oblíquo; ângulo posterior retangular, só nos 18.º e 19.º segmentos com pequena saliência. Rebordo dos segmentos áporos fino, dos poríferos se dilatando sempre na parte distal numa bossa oval. Nesta o poro abre-se lateralmente numa escavação bem na ponta distal.

Flancos com chagrém forte, quase reticulados. As carenas pleurais nos segmentos prégonopodiais com crista serrilhada, entre o 4.º-6.º segmento com saliência distal; depois ficando mais oblíqua, limitada à parte distal e menos rugosa, presente até o 15.º segmento.

Telson sem peculiaridade.

Esternitos do ♂: O 4.º com 1 par de pequenos tubérculos, o 5.º com 1 par anterior de cones escuros e 1 par posterior de bossas baixas, o 6.º com 1 par anterior de bossas pouco maiores, cobertas tôdas de poucas cerdas. Os pós-gonopodiais com 2 pares de cones, situados na base das pernas, ausente nos últimos 5 esternitos.

Pernas do ♂: Coxa do 2.º par com largo processo retangular; prefêmur com botão prefemural, presente até o penúltimo par; palmilha tíbial começa também no 2.º par, larga, cêrca de 1/3 do comprimento do tarso, diminuindo nas pernas pós-gonopodiais.

Gonopódios: Coxa grande, porém curta, com uma cerda acima da base do comprido e fino processo coxal e 1 cerda no lado ventral. Solenito relativamente pequeno. Prefêmur oval comprido, formando seu eixo um ângulo reto com a coxa; bossa interna com numerosas cerdas. No lado anterior tem origem o processo prefemural, dividido em 2 fôlhas, uma interna menor, distalmente truncada e dirigida com a ponta para a frente, outra maior, externa, terminando num lobo oval anterior e uma parte posterior ponteaguda. O solenomérito com lâmina comprida, terminando repentinamente numa parte mais estreita, dobrada para trás, onde se destaca, além de uma pequena lâmina triangular, um curto processo em forma de um estilete.

Material: O único ♂ guardado em álcool, os gonopódios e parte representativa das pernas montados na lâmina n.º 2.043 na coleção do autor. O nome foi derivado da localidade.

Procedência: Estado do Rio de Janeiro, Murié (Mun. Nova Friburgo), alt. 1.000 m, 20-II-60, 1 ♂, leg. H. Sick.

Justificação: A espécie tem semelhança com *L. ustus* Schubart, conhecido da Serra dos Orgãos, mas se distingue fàcilmente por diversos caracteres, como se verifica pelo confronto das descrições.

Pseudoeurydesmus urbanae sp. n.

(Fig. 14)

Descrição: ♂ ♂ 20 mm de compr., larg. do proz. 2,8 mm, do metaz. 3,6-3,8 mm. ♀ 20 mm de compr., larg. do proz. 3,1 mm, do metaz. 4,1 mm.

Côr amarelo limão ("jaune citron") (Seguy n.º 272) ou "jaune glauque" (Seguy n.º 241), sendo os tergitos, principalmente na parte distal, pardacentos.

Com fina linha mediana acinzentada. Antenas e pernas amarelo pálidos (SEGUY n.º 289). A ♀ em geral menos amarela, a côr parda mais pronunciada. Em álcool ficam os exemplares amarelados pálidos, com a parte anterior do corpo acastanhada.

Pela morfologia geral muito semelhante a *P. baguassuensis,* mas liso, brilhante, sendo o chagrém mais fino. As carenas laterais prolongadas e mais ponteagudas que em *P. baguassuensis,* semelhante a *P. acuminatus.*

Esternitos do ♂: O 4.º com 1 par de fracas intumescências. O 5.º com 2 pares de processos altos, sendo o par posterior mais estreito. O 6.º só com vestígios de 1 par anterior. Os esternitos pós-gonopódios com 2 pares de cones na base das pernas, faltando no último esternito.

Pernas do ♂: O 1.º par com cerdas compridas na coxa e no prefêmur. Coxa do 2.º par com grande processo comprido mamiliforme. Prefêmur e fêmur com macrocerdas. Botão prefemural presente do 2.º até o último par, mas pouco desenvolvido; palmilha tíbial começa no 2.º par, cêrca de 1/2 do comprimento do tarso, aumentado à 3/5, só no último têrço do corpo diminuindo, no 25.º ainda 1/2, nos 2 últimos pares vestígios.

Gonopódios: Coxa com vestígio de um processo coxal, atrás do mesmo com 2 cerdas e no lado ventral com 1 cerda grande. Solenito normal. Prefêmur angulado, com bossa interna coberta de cerdas e uma nítida saliência no ângulo. A parte distal com cerdas truncadas. Processo prefemural termina numa larga fôlha arredondada, finamente estriado no sentido longitudinal e com dobra interna, que se prolonga num processo ponteagudo. Fêmur na base com processo unciforme, separando-se no meio do telopodito o próprio solenomérito, ramo fino, serrilhado e munido de pequenos processos. A parte distal do telopodito dobra para frente, fissilobado. Acima da base do solenomérito, tem origem uma pequena fôlha oval, fissilobada.

Esternito da ♀ com 2 pares de cones, sendo o par posterior ponteagudo, ficando nos últimos esternitos menor. Pernas da ♀ sem peculiaridades.

Material: O ♂ *typus* é conservado em álcool, seus gonopódios e parte representativa das pernas montados nas lâminas n.º 2.087 e 2.088. A espécie é dedicada à sua colecionadora Sra. Helga Urban, São Paulo, que tanto se interessa pelas ciências biológicas.

Procedência — Estado de São Paulo: Ilha de São Sebastião (Mun. Ilhabela), 25-XI-49, 3 ♂♂, 1 ♀, leg. Dna. Helga Urban.

Justificação: A espécie pertence às formas pequenas com 2 pares de cones no 5.º esternito do ♂. Os caracteres dos gonopódios, coxa com processo reduzido, prefêmur angulado, bossa interna bem distinto e lobo interno do processo prefemural com dente dirigido para trás, em conjunto com a côr etc., distinguem fàcilmente a espécie.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SCHUBART, O., 1955, Materiais para uma fauna do Estado de São Paulo — Os Leptodesmidae. *Arq. Mus. Nac.,* Rio de Janeiro, 42: 507-540, figs. 1-30.

Rev. Brasil. Biol., 20 (4) : 465-476
Dezembro, 1960 — Rio de Janeiro, GB

CRÍTICA BIBLIOGRÁFICA

FALCONER, D.S., 1960, INTRODUCTION TO QUANTITATIVE GENETICS, IX+365 pp., figs., Oliver and Boyd, London.*

A maior parte dos caracteres genéticos econômicamente importantes dos animais e das plantas são quantitativos. A genética de populações é a base para a compreensão dos fenômenos evolutivos. Apesar da sua importância teórica e prática a genética de populações e a genética quantitativa são dois ramos que nem sempre têm tido, nos cursos, a divulgação e o desenvolvimento necessários.

As razões principais para a divulgação insuficiente dêsses dois ramos da genética são a necessidade de alguma base matemática e a falta de livros de texto em que essa base seja exposta com clareza e simplicidade juntamente com os fundamentos teóricos e os resultados experimentais.

O livro de Falconer vem sanar, em grande parte, essas deficiências. Falconer reduz a matemática e a estatística necessárias a um mínimo e quando operações ou análises mais complexas são necessárias, os seus detalhes são explicados.

Decisão acertada do autor foi a de não pretender escrever um livro exaustivo ou enciclopédico. Citações são feitas só de trabalhos que exemplifiquem, com clareza e de forma típica, os fenômenos analisados. O uso freqüente de exemplos, analisados em detalhe, são da maior utilidade para explicar a aplicação dos métodos apresentados e a compreensão dos vários fenômenos, objetos das discussões. Os exemplos apresentados são todos muito bem selecionados e tirados dos melhores trabalhos.

A distribuição da matéria dos vários capítulos é muito bem equilibrada não havendo nem deficiências nem hipertrofias. Os cinco capítulos iniciais, Constituição genética de uma população, Mudanças de freqüências gênicas, Populações pequenas: I. Mudanças nas freqüências gênicas em condições simplificadas, Populações pequenas: II. Condições menos simplificadas, Populações pequenas: III. Populações de linhagens e endocruzamento restrito, representam uma excelente e claríssima introdução à genética de populações. Num total de 103 páginas um enorme acervo de conhecimentos é apresentado de maneira

* Oferta do Conselho Britânico.

sintética constituindo, na minha opinião, a melhor introdução disponível à genética de populações.

A genética quantitativa é apresentada nos capítulos seguintes intitulados: Variações contínuas, Valôres e médias, Variância, Semelhanças entre parentes, Heritabilidade, Seleção: I. A resposta e a sua predição, Seleção: II. Os resultados de experiências, Seleção: III. Informações de parentes, Endocruzamento e fecundação cruzada: I. Mudanças do valor médio, Endocruzamento e fecundação cruzada: II. Mudanças de variância, Endocruzamento e fecundação cruzada: III. A utilização de heterose, Escala, Caracteres limiares, Caracteres correlacionados, Caracteres métricos sob seleção natural. Êstes capítulos são uniformemente excelentes.

O livro termina com um útil glossário de símbolos, uma lista de referências com índice e um índice de assuntos.

O livro de Falconer é, na minha opinião, a melhor introdução existente à genética quantitativa e dificilmente poderá ser igualado. Deve ser entusiàsticamente recomendado a todos os interessados em evolução e em melhoramento de animais e plantas.

É um livro excelente num campo em que um bom livro fazia grande falta.

A. Brito da Cunha.

CANNON, D.A., EDIT., 1960, PROCEEDINGS OF A SYMPOSIUM ON IMMUNIZATION IN CHILDHOOD, HELD IN THE WELLCOME BUILDING, 4TH TO 6TH, May 1959. 139 p., figs., E.S. Livingstone, London.*

Os progressos obtidos nos últimos anos na técnica de preparo de vacinas e toxóides permitiram a obtenção de produtos com melhor poder antigênico, além de possibilitar a prevenção de maior número de doenças bacterianas e de viroses.

Como decorrência dêste fato houve uma larga aplicação de tais meios profiláticos surgindo inúmeros problemas, não só na técnica de aplicação, para se obter o melhor rendimento, como nas reações e inconvenientes decorrentes do uso tais produtos. Por outro lado a organização de esquemas de vacinação, que permitam à criança ter uma proteção imediata na primeira infância, têm sido a preocupação máxima, não só dos pediatras, como também dos sanitaristas, bacteriologistas, epidemiologistas e outros interessados no bem estar da coletividade.

O presente simpósio foi organizado com a finalidade de analisar e discutir os inúmeros problemas decorrentes da vacinação em massa e, com a experiência acumulada durante anos pelos vários especialistas, serem estabelecidos princípios básicos que deverão nortear os esquemas de imunização.

---

* Oferta do Conselho Britânico.

Os temas foram divididos em 5 seções tomando parte 70 diferentes especialistas como: médicos sanitaristas, médicos escolares, clínicos, pediátras, epidemiologistas, estaticistas, bacteriologistas, professôres, especialistas em doenças infecciosas, além de representantes do Ministério da Saúde da Grã-Bretanha e Reino Unido.

Na 1.ª seção discutiram-se os riscos da imunisação, como o aparecimento de pólio nos vacinados contra outras infecções, os acidentes com a vacinação anti-pertussis (encefalopatia e convulsões), terminando com os erros mais comuns e as recomendações especiais para a esterilização de seringas e agulhas usadas nas vacinações individuais ou em massa.

Na 2.ª seção discutiram-se em primeiro lugar as interferências na produção de anticorpos quando a vacinação anti-poliomielítica está associada a outras vacinas: anti-pertussis, anti-diftérica e anti-tetânica. Estuda-se também a interferência dos anticorpos maternos na imunização da criança e qual a melhor idade para a vacinação.

A seguir foi analisada a vacina anti-pertussis focalizando-se três problemas: a) que tipo de vacina deve ser usada; b) qual a idade da primeira vacinação; c) deve-se dar doses de refôrço e quando. A vacina deve ser uma suspensão bacteriana morta pelo mertiolato ou formol desde que responda aos padrões mínimos de proteção em provas de laboratório. A fração solúvel de Pillemer provàvelmente é melhor antígeno vacinante do que a vacina bacteriana total, mas determina reações locais e gerais acentuadas. É sugerido um melhor estudo desta fração pois poderá ser de grande valor quando associada às vacinas mixtas. Discute-se também das vantagens e desvantagens da junção do alúmen à vacina ressaltando-se as reações resultantes do seu emprêgo.

Quanto a idade da primo vacinação ela deve ser feita o mais cedo possível (2 a 4 meses) pois a mais alta mortalidade é em crianças de baixa idade. Ainda não se sabe quando devem ser dadas as doses de refôrço na vacinação ante-pertussis, e só estudos futuros responderão a esta pergunta.

Na terceira seção foram estudadas as vacinações anti-diftérica e tetânica, além da profilaxia combinada. Focalisou-se o perigo destas duas infecções em países onde estão ficando raras pois as medidas preventivas vão se tornando pouco rigorosas. O valor dos toxóides adsorvidos foi aceito, acentuando-se o efeito da mistura da vacina anti-pertussis no aumento significante da conversão da prova de Schick. Quando se junta toxóide tetânico ao diftérico ou a vacina tríplice verifica-se haver uma diminuição na resposta imunológica ao antígeno diftérico. Quando se analisa a imunização combinada discute-se o tipo de vacina a ser usada, além do esquema de inoculação a ser feito.

Aspecto importante é a junção da vacina anti-pólio à vacina tríplice, conseguindo-se uma quadrupla imunização. Foi verificado que a resposta de anticorpos anti-poliomielíticos na vacinação quadrupla é menor do que na vacinação anti-pólio isoladamente, no entanto a imunização contra a difteria-tetano-coqueluche é excelente. É salientado o papel dos anticorpos maternos quando se

faz imunização com baixa idade. Nestes casos é importante a junção de adjuvantes, ou aumento das concentrações dos antígenos, para se vencer a interferência daqueles anticorpos. Discute-se exaustivamente o tipo de vacina a ser utilisada e a idade em que se deve aplicar.

Um aspecto importante que foi considerado refere-se as fichas de controle das vacinações sendo sugeridas normas para uma padronização.

Na 4.ª seção foram tratados os programas de imunização analisando-se os "pro" e "contra". Foi salientado ser o ponto essencial de um programa de imunização a sua segurança e eficiência. As medidas preventivas poderiam começar pela imunização materna no período ante-natal. Já a proteção pós-natal com múltiplos antígenos dependem da idade, da antigenicidade das vacinas, e a prioridade dos diferentes processos usados. Vários esquemas foram discutidos e propostos.

Na 5.ª seção discutiram-se a adoção de esquemas de imunização na criança atendendo uma ampla proteção contra a difteria, pertussis, tétano, pólio, varíola e BCG.

O presente simpósio traz uma grande soma de conhecimentos para todos aquêles interessados direta ou indiretamente na prevenção de muitas das doenças infecciosas da criança. Em muitos casos os dados apresentados e discutidos representam uma grande experiência pessoal e, às vêzes, única.

A leitura do presente livro é de grande utilidade não só para os pediatras como para aquêles que se dedicam à Saúde Pública.

Gobert Costa.

MACFARLANE, L.R.S., 1960, A SHORT SYNOPSIS OF HUMAN PROTOZOOLOGY AND HELMINTHOLOGY. VII+251 pp., 61 figs. 8 col. pls., E. & S. Livingstone Ltd., London.*

É bem uma sinópse êste pequeno volume de Protozoologia e Helmintologia humana, onde as descrições amplas, sob o ponto de vista zoológico, não são levadas em conta.

Cada capítulo tem a orientação clássica de estudo, começando com a distinção das espécies e terminando com a terapêutica. As informações são muito resumidas e as ilustrações são quase exclusivamente dos parasitos e seus ciclos evolutivos, esquemáticas na maior parte, incluindo 8 estampas coloridas sôbre protozoários, assinadas por R. M. Leach. Existe um apêndice sôbre processos de preparo e coloração de lâminas e um glossário de vocábulos menos conhecidos, além de um índice extenso. A ausência de referências bibliográficas é absoluta.

Não são incomuns os erros tipográficos ou de revisão, inclusive de nomes zoológicos, embora a apresentação geral seja agradável.

Herman Lent.

---

* Oferta do Conselho Britânico.

SHUTE, P.G. & MARYON, M.E., 1960, LABORATORY TECHNIQUE FOR THE STUDY OF MALARIA. X+86 pp., 25 figs., J. & A. Churchill Ltd., London.*

Como decorrência da necessidade da utilização de mosquitos infectados com vistas ao emprêgo da malarioterapia, os AA. experimentaram, modificaram e criaram várias técnicas e o resultado dêsse trabalho de cêrca de 35 anos vem revelado no precioso livrinho agora editado. Experiência tão prolongada permite a indicação das melhores técnicas e facilita o trabalho de outros centros dedicados ao mesmo fim.

A primeira secção do livro trata das técnicas do preparo e da coloração de lâminas de sangue e inclui métodos para esfregaços e gôta espêssa, não só um, porém alguns dos melhores, segundo o conceito dos autores.

A secção 2 trata de técnicas variadas, como as do preparo de material demonstrativo para gametócitos e oocinetos, dissecção de glândulas salivares e estômago de mosquitos, observação de oocistos e esporozoítos, cortes histológicos de mosquitos, diagnóstico de oocistos nas diferentes espécies, contagem de esporozoitos com vistas a injeção do material em pacientes, cultura dos parasitos e técnicas para utilização de material colhido em biópsias e *post-mortem*.

A terceira secção cuida da criação de colônias de anofelinos em laboratório e sua infestação com plasmódios.

E a secção 4 relaciona certo número de informações práticas necessárias aos trabalhos.

Há uma seleção bibliográfica no fim do volume, apezar de, em cada capítulo das secções, existir também uma pequena lista de referências.

O volume é ilustrado por figuras que objetivam os principais detalhes da experiência dos autores.

Herman Lent.

CHRISTOPHERS, S.R., 1960, AËDES AEGYPTI (L.) THE YELLOW FEVER MOSQUITO: ITS LIFE HISTORY, BIONOMICS AND STRUCTURE. XII+739 pp., 86 figs. Cambridge University Press.*

Sir S. R. Christophers, o bem conhecido especialista em mosquitos, nos apresenta, num belo volume de 739 páginas, tudo o que se sabe até agora, a respeito do *Aedes aegypti* (L.), o mosquito da febre amarela, durante muito tempo conhecido como *Stegomyia fasciata* (F.). No prefácio, o autor justifica a escolha dêste mosquito para fazer um livro de tal natureza, dizendo que:

> "As a type for much that is known about mosquitoes *A. aegypti* has many qualifications. Its history is closely linked with that of early research on mosquitoes and their systematic study. Its distribution and possible source of origin are still subjects of great interest. More than any other single species of mosquito, *A. aegypti* has been cultivat-

* Oferta do Conselho Britânico.

ed and used in the laboratory for research on mosquito structure and bionomics and on mosquito behaviour and reactions. The species is extensively used as a test insect in the evaluation of insecticides and repellents and in general as a useful type for a variety of forms of research. In public health work it is notorious as the vector of urban yellow fever and is also the common vector of dengue. In both these latter capacities it has been and still is object of control measures on an immense scale and has largely formed the basis for quarantine regulations in ports and in aeroplane traffic in many parts of the world."

O livro está dividido em 31 capítulos cada um dêles por sua vez subdividido em vários itens; no final de cada capítulo o autor dá as referências bibliográficas correspondentes, numerosas, como não poderia deixar de ser; muitas das citações estão repetidas em vários capítulos e portanto é difícil saber o número exato de obras citadas, mas pode-se calcular em cêrca de 2.000. O VII.º capítulo, "Eclosão" é o que apresenta menor número de citações, 13, e o II.º "Sistemática", o que traz o maior número de citações, 257.

O autor dá ênfase sobretudo à anatomia externa e interna, de tôdas as fases, bem como à fisiologia; apenas os 5 primeiros capítulos tratam de outros assuntos (Historical, Systematic, Bionomical, Medical, Technique).

Como é natural, muitos dos exemplos e citações não se referem ao *Aedes aegypti*, mas sim a outras espécies de Culicidae ou mesmo de outros nematóceros, o que aliás, aumenta muito o valor do livro.

No final há um adendo e um bem cuidado índice.

Devemos ainda assinalar que, embora o livro seja de grande formato e grosso, sua leitura é feita sem esfôrço pois a editora escolheu os tipos adequados para sua impressão.

Creio que o livro de Sir S. Richard Christophers passará a ser de consulta obrigatória por parte daqueles que trabalham em mosquito, mesmo em países como o nosso, onde o *Aedes aegypti* foi erradicado, tal o repositório de conhecimentos que nos apresenta.

S. J. de Oliveira.

RERABEK, J. & RERABEK, E., 1960, LEITFADEN DER GEWEBEZUECHTUNG. 370 pp., 126 figs. Gustav Fischer, Jena.

No tratado de Cultura de Tecidos, publicado recentemente (1960) em língua alemã, os autores tchecos dão uma descrição detalhada de tôdas as técnicas de Cultura de Tecido, hoje em uso nos vários campos da biologia animal e vegetal.

São descritos os métodos clássicos em gôta pendente e em frascos de Carrel como os de cultivo em "roller" tubos ou em suspensões, e também os métodos para obtenção de um crescimento organotípico. Tudo é acompanhado por excelentes ilustrações, em parte em côres, de aparelhos, instalações e microfotografias de culturas vivas e fixadas e coradas.

São explicadas as aplicações que as diferentes técnicas de cultivo têm nos diversos campos da pesquisa, começando com a simples observação da célula viva no microscópio, normal ou em condições experimentais, como p. ex., sob efeito de irradiações ou infecções por virus ou parasitos intracelulares. São dadas também técnicas suplementares, como a de autoradiografia em células cultivadas ou a de aplicação para microscopia electrônica.

Grande parte do livro é dedicado à aplicação da Cultura de Tecido para fins fisiológicos, sendo descritos vários métodos quantitativos, químicos e físicos e processos matemáticos para avaliação dos resultados obtidos com estes métodos.

Abundante bibliografia acompanha cada capítulo, dando ao leitor a possibilidade de se orientar ainda mais detalhadamente, se for necessário. O livro pode ser de grande utilidade para os que se iniciam no cultivo de células "in vitro", tanto para o trabalho de rotina como para pesquisas especializadas.

Herta Meyer.

PEARSE, A.G.E., 1960, HISTOCHEMISTRY-THEORETICAL AND APPLIED, 2nd ed., 998 pp., 10 col. pls., 245 figs. J. & A. Churchill Ltd., London.*

Poucas vêzes, com intervalo relativamente tão curto, nova edição de um livro se apresenta enriquecida, atualizada e bem exposta como a Histoquímica de Pearse. Constitui ela uma magnífica condensação do que de melhor se tem divulgado, nos últimos anos, em revistas especializadas ou em periódicos outros.

Seleção cuidadosa norteou a inclusão de contribuição alheia nos 29 capítulos do livro, devendo ser louvada a imparcialidade com que foi comentada, quando oportuno. Dessa maneira, assume, a maioria dos capítulos, características de autênticas monografias em que transparece o desejo do autor de referir os mais destacados trabalhos em histoquímica. Tal objetivo foi quase sempre alcançado, disso resultando tornar-se o livro um conjunto de ensinamentos teóricos e práticos extraordinàriamente úteis, sem prejuízo do texto que se mantém em nível elevado, embora acessível a todos que dêle necessitem fazer uso.

O histórico da histoquímica, o emprêgo da navalha refrigerada, do micrótomo em câmara fria, métodos de congelamento e dessecação ou congelamento e substituição, são os assuntos dos três primeiros capítulos, onde o autor discute as vantagens e inconvenientes dos diferentes modêlos de aparelhos existentes no comércio, e suas maiores aplicações ao estudo de problemas específicos em histoquímica.

A química da fixação pelo aldeído fórmico, álcool, acetona, ions metálicos, embora tratada com parcimônia no capítulo IV, permite ao leitor definir-se sôbre o melhor agente fixador a empregar, quando se tratar do estudo de um determinado componente histológico.

A histoquímica de proteinas simples e conjugadas abrange os capítulos V a VIII, parecendo-nos, a criação de um novo capítulo para considerar exclusi-

* Oferta do Conselho Britânico.

vamente o estudo de anti-corpos marcados por fluorocrômos, indicação de grande entusiasmo pelo assunto ou desejo de focalizá-lo para um maior interêsse dos pesquisadores, no futuro.

A parte do livro em que trata dos hidratos de carbônio é rica em comentários úteis. O destaque da substância amilóide, também, não nos pareceu inteiramente justificado.

Os capítulos dedicados à histoquímica de lípides, lipoproteína e proteolípides, bem como os que tratam dos enzimas, constituem, sem dúvida, os pontos mais altos do livro. Justificariam, por si sós, esta nova edição.

A julgar pelo desenvolvimento dado ao capítulo dedicado à histoquímica dos constituintes inorgânicos, se é levado a crer estar o problema, abandonado durante tantos anos, merecendo a atenção dos especialistas.

Perto de 200 páginas são ocupadas com apêndices, onde o autor descreve métodos selecionados em seu laboratório, acrescentando, quando necessário, comentários e recomendações que eliminam as causas de êrro, mesmo quando realizados por principiante. Falta faz, nos apêndices, uma remissão ao texto que permitiria o encontro fácil da parte teórica correspondente.

A lista de pesos moleculares é de grande ajuda, bem como a informação dos produtores de reagentes.

Pearse, deve ser repetido, realizou trabalho de grande mérito ao editar a segunda edição de sua Histoquímica. Dificilmente aparecerá obra comparável. O livro é, sem dúvida, obra indispensável nos laboratórios de histologia, histoquímica e embriologia.

Antonio Couceiro.

MONNIER, A. M., 1959, ACTUALITÉS NEUROPHYSIOLOGIQUES. 1e. Ser. 276 pp., 180 figs. Masson &Cie. ed., Paris.*

A primeira série de "Actualités Neurophysiologiques" consiste de um grupo de conferências pronunciadas na Faculdade de Ciências de Paris, por nomes destacados da neurofisiologia contemporânea, tais como E. D. Adrian, H. K. Hartline, A. Arvanitaki, R. Granit, B. Katz, Alfred Fessard e outros. Conquanto a publicação agrade, parece-nos que o aspecto sintético das conferências tirou, de muito, o interêsse maior, qual seja, o de fornecer ao neurofisiologista um aspecto ao mesmo tempo claro e completo dos problemas tratados. A sugestão que fariamos ao Dr. Monnier seria que tais conferências fôssem prèviamente desenvolvidas pelos respectivos autores.

O primeiro artigo, intitulado "Des réactions électriques du système olfactif" resume-se à 3 folhas e meia. Assinado por Adrian, apresenta-nos conceitos gerais sôbre a morfologia do sistema olfativo do coelho, com subseqüente discussão das técnicas eletrofisiológicas aplicadas ao estudo do referido sistema. Tópicos tais como a especificidade química e outros critérios para distinção dos odores,

* Oferta dos Editôres Masson & Cie.

são ligeiramente desenvolvidos. O autor discute o achado de Ottoson, segundo o qual uma despolarização lenta se desenvolve no epitélio olfativo quando se apresenta um odor. Por sua vez a atividade elétrica gerada no bulbo olfativo varia em sentido contrário àquela desenvolvida no epitélio. O aspecto sinusoidal das ondas bulbares é discutido e algumas palavras são incluidas sôbre a complexidade da resposta olfativa.

O prof. Hartline contribui com um artigo interessante sôbre a atividade dos receptores do ôlho do *Limulus* e sua integração sensorial. Uma discussão geral é incluida sôbre a importância e a contribuição dos estudos realizados nesta estrutura para o conhecimento dos fenômenos eletrofisiológicos da visão. Sendo cada elemento do mosaico retiniano uma unidade receptora funcional, se torna muito mais cômodo o estudo dos fenômenos de interação que, ficou demonstrado, existem entre os elementos do ôlho do *Limulus*. Segundo o autor, cada elemento do mosaico retiniano apresenta uma atividade que é função da luz que recebe, atividade esta que é influenciada por sua vez, pelo estado funcional dos elementos circunvizinhos. A interação que se verifica entre os elementos é de natureza puramente inibidora.

Arvanitaki-Chalazonitis versam o tema "Photo-activation des somata neuroniques pigmentés". A propriedade das células excitáveis serem fotoativáveis é redescoberta pelos autores que apresentam um sumário, até certo ponto completo, sôbre os seus trabalhos neste setor. A iluminação de um axônio produz uma despolarização imediata que é função da intensidade do feixe luminoso. A despolarização gera uma atividade osciladora local, e a resposta fotobioelétrica só se faz evidente na presença de oxigênio. Na segunda parte do artigo, encontra-se uma síntese de vários estudos realizados na *Aplisia*. Os fenômenos de fotoativação e especialmente no que se refere aos potenciais elétricos da membrana celular vem sendo estudados sistemàticamente.

R. Stämpfli apresenta-nos, de modo um tanto sumário, os resultados dos seus estudos sôbre a eletrofisiologia dos nódulos de Ranvier, especialmente sôbre a ação dos ions potássio e cálcio. Uma resistência à ação dos ions potássio é descrita para os nódulos de Ranvier e sua importância discutida em relação com a teoria iônica de Hodgkin.

O problema das interações dos processos neuromusculares no tonus isométrico de postura, é apresentado numa maneira muito interessante por Ragnar Granit. Fazendo um esquema geral das complexidades do problema do tonus, salienta a importância do reflexo miotático nos mecanismos tônicos posturais, faz menção da influência de outros sistemas e estruturas tais como o sistema de fibras gama, fusos neuro-musculares, neurônios motores tônicos (alfa) dos cornos anteriores da médula, propriedades mecânicas dos músculos, etc. O autor faz, em seguida, uma revisão sôbre uma série de dados recentes sôbre a fisiologia do sistema gama, iniciando com a influência da excitação da substância reticular facilitadora na freqüência da descarga proveniente de um fuso muscular, registrada num único filamento da raiz dorsal. Diz da ação inibidora da excita-

ção da substância reticular e, finalmente, estuda estas descargas no fuso desaferentado pela secção das raizes anteriores. Com a desaferentação cai substancialmente a freqüência das descargas, indicando que o tonus das fibras do fuso é mantido por fibras eferentes motoras. O contrôle do sistema gama sôbre os fusos é estudado em gatos descerebrados com acentuada rigidez, nos quais se provoca um reflexo miotático. Pode-se observar um aumento da freqüência de descargas nas fibras aferentes dos fusos. A secção do sistema gama (secção das raizes anteriores) provoca uma completa perda de atividade em fibras aferentes de fusos em repouso, e em condições de estiramento a freqüência das descargas é muito menor do que a registrada em presença do sistema gama, sugerindo que os neurônios motores do tipo gama atuam reforçando a atividade aferente dos fusos neuro-musculares. Em seguida o autor resume dados recentes sôbre os motoneurônios tônicos alfa e discute a potencialização pós-tetânica como meio para amplificar as respostas dos neurônios. Uma análise das propriedades mecânicas do musculo e reações proprioceptivas, considerando a freqüência média dos fusos em função da extensão do músculo.

O professor Bernard Katz contribui com um pequeno e interessante artigo intitulado: "Caractère discontinu de la libération d'acetylcholine dans la plaque motrice". O autor faz menção à potenciais de pequena amplitude (0.5 a 1 mV) que são observados nas vizinhanças imediatas da placa motora — "potenciais miniatura". Estes potenciais têm uma expressão temporal idêntica ao potencial local da placa motora. Comportam-se em relação às drogas de modo semelhante ao potencial local da placa motora, diminuindo com o curare e aumentando de amplitude e duração com a prostigmina, e da mesma forma que o potencial da placa motora, são devidos à uma liberação local de acetilcolina. A adição de acetilcolina ao meio não altera a freqüência dos potenciais miniatura. Na placa motora há uma liberação expontânea de acetilcolina, que se faz por unidades quânticas, unidades estas cuja dimensão é constante e independente das condições experimentais. O que varia é a probabilidade de aparição de um quantum de acetilcolina. O potencial local pode, assim, ser explicado, nos diz Katz, pelo fato de que "a chegada do influxo nervoso à placa motora multiplica, numa fração de milisegundo, a probabilidade de liberação de um quantum de acetilcolina".

Num artigo intitulado "Données micro-électrophysiologiques récentes sur l'activation des divers tissus cardiaques" o Dr. E. Coraboeuf procura fazer um estudo generalizado sôbre a técnica dos microeletródios no músculo cardíaco correlacionando o potencial transmembrana com as variações iônicas do meio. O artigo está longe de satisfazer à quem se dedica ao assunto pelo fato de ser por demais superficial. A opinião que temos é de que o Dr. Coraboeuf quis dar um aspecto simplista ao problema realmente complexo das interações iônicas no miocárdio.

O professor Malmejac contribui com um artigo em que procura englobar todo o seu estudo sôbre a secreção suprarrenal, sua integração, etc., não chegando, entretanto, à apresentar o seu trabalho na totalidade.

Outros artigos, tais como "Les centres réflexes bulbaires de la respiration et de la dépression artérielle" assinado pelo Dr. Oscar Wyss e "Les relations entre l'activité corticale et l'activité réticulaire" assinado por M. Bonvallet, apresentam-nos uma síntese agradável dos fatos clássicos e recentes sôbre os itens tratados.

Em resumo, diríamos que a primeira série de "Actualités Neurophysiologiques" apresenta-se com altos e baixos, não no que diz respeito ao valor dos ilustres contribuidores, mas pelo fato de que nem sempre procuram trazer ao leitor especializado o aspecto amplo dos problemas e suas atuais dificuldades. Esperamos que os números seguintes possam ser mais elaborados no que diz respeito à informação no seu bom sentido.

Walmor C. de Mello.

LISON, L., 1960, HISTOCHIMIE ET CYTOCHIMIE ANIMALES, 3e. éd., vol. 1, 397 pp., 25 figs., Gauthier-Villars, Paris.*

Nesta terceira edição de um livro que tem o enorme mérito de haver redescoberto, em 1936, a Histoquímica, e servido de ponto de origem para o significativo e crescente desenvolvimento daquele setor da Biologia, o autor refunde sua obra, dá-lhe forma nova, mais ampla e clara, mantendo o cunho eminentemente crítico com que analisa os diferentes métodos e discute seus mecanismos de ação e a especificidade de seus resultados.

O livro, escrito com invejável clareza, bem ordenado, é de leitura agradável e fere os pontos mais importantes da Histoquímica, mantendo, assim, a tradição de obra necessária em qualquer laboratório de histologia.

O volume em apreço foi dividido em 4 partes, compreendendo 12 capítulos. Os princípios gerais da pesquisa histoquímica estão expostos e magnificamente discutidos na primeira parte. O emprêgo de métodos físicos na análise histoquímica é objeto dos capítulos V, VI, e VII. A histofotometria foi tratada com especial atenção, constituindo um dos pontos altos do livro.

A reunião das reações para demonstração de radicais e funções químicas na terceira parte, capítulos VIII, IX e X, foi altamente vantajosa permitindo mais fácil compreensão da matéria.

As reações especiais para proteinas, ácidos nucleicos, nucleoproteinas e nucleótidos foram discutidas, minuciosamente, na quarta parte do volume.

Embora se reconheça não ser homogênea a melhoria em todos os capítulos, esta nova edição substitui, com vantagem, a anterior e merece ser lida por todos os que se dedicam à pesquisa histoquímica e, com muito mais razão, pelos que nela pretendam iniciar-se, pois o livro evitará muitos enganos e conclusões apressadas.

Antonio Couceiro.

---

* Oferta dos Editôres Gauthier-Villars.

GRABAR, P. & BURTIN, P., 1960, ANALYSE IMMUNO-ÉLECTROPHORÉTIQUE, SES APPLICATIONS AUX LIQUIDES BIOLOGIQUES HUMAINS. 294 pp., 93 figs., 4 col. pls., Masson et Cie., Paris.*

O desenvolvimento da técnica electroforética tem sido sensível nestes últimos tempos, tanto no sentido de melhores equipamentos como no aperfeiçoamento dos métodos, permitindo uma ampliação do seu emprêgo analítico, bem como para obtenção de quantidades maiores das frações puras, para os trabalhos experimentais

A aplicação de técnicas electroforéticas bem elaboradas, entre elas a imuno-electroforese, tem permitido alcançar a composição e suas relações com as propriedades de muitos líquidos biológicos.

A electroforese em agar-agar tem sido objeto de muitos trabalhos, mas a escola de P. Grabar, no Instituto Pasteur de Paris, realmente tem o mérito do desenvolvimento obtido pela conjugação dos dois recursos de investigação de uma substância: a sua definição pela respectiva mobilidade no campo elétrico e, por outro lado, pela sua especificidade imuno-química, conjugação essa que constitui a imuno-electroforese.

Trata-se de recurso capaz de revelar misturas complexas nos líquidos biológicos, mediante o uso de pequenas quantidades de material, e oferecendo resultados com bastante margem de segurança.

Na monografia que apreciamos, encontra-se na primeira parte uma descrição minuciosa dos princípios da técnica e da interpretação quantitativa dos resultados.

A segunda parte é destinada ao estudo da aplicação da técnica imuno-electroforética ao plasma e sôro sangüíneos humanos, normais e patológicos. É nesta parte que se podem evidenciar os requintes de precisão da técnica, como no exame da homogeneidade das frações globulínicas, especialmente, as do grupo das gama-globulinas.

Há, ainda, um capítulo sôbre a análise do sangue do cordão umbelical e de recemnascidos.

Os sôros humanos patológicos são estudados em 11 capítulos, destacando-se os de agamaglobulinemias, mielomas, doença de Waldenström, crioglobulinemias, afecções hepáticas, reumatismo, análise no curso de leucoses, sarcomatoses, lupus eritematoso e outros.

Já na 3.ª parte, os Autores abordam a aplicação da imuno-electroforese a outros líquidos biológicos, como a urina nas proteinúrias, líquidos céfalo-raquiano e perilinfático, proteínas do líquido sinovial, do leite e do colostro maternos.

É, pois, monografia de grande importância para a pesquisa neste campo, como fonte excelente de informações e de técnica, escrita com alto senso didático e com boa apresentação.

Humberto T. Cardoso.

---

* Oferta dos Editôres Masson & Cie.

ÍNDICE DO VOLUME 20

Acarinos plumícolas parasitas de aves do Brasil, **149**
Actinopterygii, Cypriniformes, Characoidei, **17**
Adrenalina e noradrenalina na suprarrenal de tartarugas normais e hipofisoprivas, **251**
Aedes (*Stegomyia*) *aegypti*, Ginandromorfos de, **429**
AMORIM, M. F., MELLO, R. F. & SALIBA, F., Intermediate nephron nephrosis experimentally induced with *Crotalus t. terrificus* venom in the dog, **359**
Analgesoidea neotropicais, **149**
Antibiótico Kanamicina, Alguns aspectos farmacológicos de um novo, **43**
ANTUNES, P. C. A. & FORATTINI, O. P., Ginandromorfos de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae), **429**
Apodidae, Aves, **315**
ARAUJO, J. L. B., RESENDE, H. E. B. & RODRIGUES, P. A. F., Sôbre *Bulimulus tenuissimus* (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Pulmonata), **33**
Arrhenodinae, Brentidae, **143**
Arthrosolaenomeris Schubart, 1943, **453**
Arthrosolaenomeris planaltensis sp. n., **453**
Astyanax saltor sp. n., **17**
Aves, Apodidae, **315**
Aves, Formicariidae, **415**
Aves, Tyrannidae, **217**

BARRETO, V. A., ver PAIVA, M. P., **121**
BARRETTO, M. P., Estudos sôbre a coloração de protozoários intestinais. III. Métodos rápidos que empregam dupla mordençagem, **391**
BARRETTO, M. P. & ZAGO F.º, H., Estudos sôbre a coloração de protozoários intestinais. II. Métodos rápidos que empregam mordentes e corantes em soluções separadas, **131**
BARRETTO, M. P., & ZAGO F.º, H. & SILVA, G. A., Ocorrência de duas "raças" de *Entamoeba histolytica* distintas pelo tamanho dos cistos, **107**
BEÇAK, M. L., ver BEÇAK, W., **425**
BEÇAK, W. & BEÇAK, M. L., Constituição cromossômica de duas espécies de aranhas do gênero *Loxosceles*, **425**
BERLA, H. F., Analgesoidea neotropicais. VIII: Acarinos plumícolas parasitas de aves do Brasil, **149**
Biologia do camarão "sossêgo", *Macrobrachium jelskii*, **121**
Bionomia e pterilose de *Panyptila cayennensis* (Gmelin, 1789), **315**
Brentidae, Coleoptera, **143**
BRENER, Z. & CHAIA, G., Isolamento e manutenção do *Strongyloides ratti* (Sandground, 1925) em condições de laboratório, **447**
Bulimulus tenuissimus (Orbigny, 1835), **33**
Buprestidae, Coleoptera, **303**

Cafeeiros, *Meloidogyne coffeicola* sp. n. em, **375**
Camarão "sossêgo", *Macrobrachium jelskii*, Nota sôbre a biologia do, **121**
Cambaia longitarsis Lane, 1951, **97**
CARVALHO, C. T., Sôbre pterilose e bionomia de *Panyptila cayennensis* (Gmelin, 1789) (Aves, Apodidae), **315**
Cerambycidae, Coleoptera, **93**, **289**, **397**, **435**
Ceratopogonidae, Diptera, **381**
CHAIA, G., ver BRENER, Z., **447**
Characoidei, Actinopterygii, **17**
Chrysemys d'orbignyi, Ação da velocidade de perfusão na glicogenólise espontânea em fígado isolado da tartaruga, **237**
Chrysoprasis do grupo *rotundicollis* Bates, 1870, Chave para determinação das espécies, **289**
Chrysoprasis melanostetha Bates, **293**
Chrysoprasis nigristernis sp. n., **291**
Chrysoprasis rotundicollis Bates, **290**
Cleridae, Coleoptera, **61**, **139**
Cléridas neotropicais, **61**
Coagulação do sangue estagnado no interior de artérias e veias, Diferença no tempo de, **85**
Coleoptera, Brentidae, **143**
Coleoptera, Bruprestidae, **303**
Coleoptera, Cerambycidae, **93**, **289**, **397**, **435**
Coleoptera, Cleridae, **61**, **139**
Coleoptera, Curculionidae, **21**
Coloração de protozoários intestinais, **131**, **391**
Copepoda, Crustacea, **327**
CORDEIRO, A. R., Biophysical Genetics. V. Two dimensional paper chromatographic study of *Drosophila paulistorum* cluster of "species in statu nascendi" and the "biochemical heterosis" of their hybrids, **365**
CORDEIRO, A. R., LEWGOY, F. & TONDO, C. V., Biophysical Genetics, IV. Chromatographic patterns of *Drosophila willistoni* races, interracial hybrids and the heterosis phenomena, **69**
Corinthiscus spectabilis sp. n., **65**
CORRADO, A. P. & RAMOS, A. O., Some pharmacological aspects of a new antibiotic — kanamycin, **43**
Cosmosoma auge (L., 1767), Redescrição da fêmea, **25**
COUTO CESAR, H., ver DINI, W., 403
Cregya divisa (Gorham, 1903), **63**
Crítica Bibliográfica, **99**, **223**, **465**
Cromatografia em *Drosophila paulistorum* e grupos afins, **365**
Cromatografia em *Drosophila willistoni*, suas raças e híbridos interraciais, **69**
Cromossomos de aranhas do gênero *Loxosceles*, **425**
Cromossomos de um *Elateridae*, **273**
Crotálico, Nefrose do nefron intermediário no cão, induzida pelo veneno, **359**
Crustacea, Copepoda, **327**
Ctenuchidae do Rio Grande do Sul, **25**
Culicidae, Diptera, **429**
Curculionidae, Coleoptera, **21**
Cypriniformes, Actinopterygii, **17**

DESLANDES, N., ver PARAENSE, W. L., **257**
Digital nacional, Atividade biológica de uma preparação de pó de, **155**
Dimorfismo sexual da lagosta *Panulirus argus* (Latr.), **51**
DINI, W. & COUTO CESAR, H., Métodos para estudo de protozoários de térmita, **403**
Diorymerus auritus Boh., **21**
Diplopoda, Proterospermophora, **439**, **453**
Diptera, Ceratopogonidae, **381**
Diptera, Culicidae, **429**
Drepanotrema petricola, Adendo, **263**
Drepanotrema surinamense (Dunker in Clessin, 1884), Redescrição, **257**
Drosophila, Ecologia do gênero, **3**
Drosophila equinoxialis, Viabilidade em, **285**
Drosophila paulistorum, Cromatografia, **365**
Drosophila willistoni, Cromatografia, **69**
Drosophila willistoni, Metabolismo respiratório do grupo crítico, **205**

Eburia albolineata Fisher, 1944, **93**
Ecologia do gênero *Drosophila*, **3**
Elateridae, Cromossomos de um, **273**
Electroforese em papel do anti-H de *Ulex europeus*, **245**
Entamoeba histolytica, Ocorrência de duas "raças" distintas pelo tamanho dos cistos, **107**
Epimelitta viridimicans Fisher, 1952, **94**
Eurymeropsis g. n., **397**
Eurymeropsis fuscofasciata sp. n., **398**

Fígado isolado da tartaruga *Chrysemys d'orbignyi*, Ação da velocidade de perfusão na glicogenólise espontânea em, **237**
FORATTINI, O. P., ver ANTUNES, P. C. A., **429**
Formicariidae, Aves, **415**
Formicidae, Hymenoptera, **89**, **277**
FREIRE-MAIA, A., Radiações e taxa de mutação no homem, **171**
FREITAS, J. F. T., Sôbre uma nova espécie do gênero *Prosthodendrium* Dollfus, 1931 (Trematoda, Lecithodendriidae), **265**
FREITAS, J. F. T. & MENDONÇA, J. M., Novo nematódeo do gênero *Pterothominx* Freitas, 1959 (Trichuroidea, Capillariidae), **269**

Gastropoda, Pulmonata, **33**
Genética Biofísica, **69**, **365**
Ginandromorfos de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.), **429**

Glicogenólise espontânea em fígado isolado da tartaruga *Chrysemys d'orbignyi*, Ação da velocidade de perfusão na, **237**
Goyazodesmus tridentatus sp. n., **443**
Guilherme Guinle, **1**

Harpacticoidea, Sôbre a tendência de fusão do 5.º par de toracópodos em, **327**
Harpagodesmus g. n., **454**
Harpagodesmus simplex sp. n., **455**
Hemilissa Pascoe, 1858, Chave das espécies, **401**
Hemilissa undulaticollis sp. n., **399**
Hemoflagelados em cultura, Transaminases em 4 espécies de, **403**
Heteroderidae, Nematoda, **375**
Heterose bioquímica, **69**, **365**
Hymenoptera, Formicidae, **89**, **277**
Hypoprasis Fairmaire & Germain, Considerações sôbre o gênero, **303**
Hypoprasis harpagon Fairmaire & Germain, 1864, **305**
Hypoprasis harpagon arauci ssp. n., **309**

Jakobi, H., Sôbre a tendência de fusão do 5.º par de toracópodos em Harpacticoidea (Copepoda, Crustacea), **327**

Kanamicina, Alguns aspectos farmacológicos de um novo antibiótico, **43**
Kaplan, M. A. & Macedo, M. P., Viabilidade em *Drosophila equinoxialis*, **285**
Kempf, W. W., A review of the ant genus *Mycetarotes* Emery (Hymenoptera, Formicidae), **277**
Kempf, W. W., *Phalacromyrmex*, a new ant genus from Southern Brazil (Hymenoptera, Formicidae), **89**
Kogan, M., Considerações sôbre o gênero *Hypoprasis* Fairmaire & Germain (Coleoptera, Buprestidae), **303**

Lane, J., Additional data on *Palpomyia* (Diptera, Ceratopogonidae), **381**
Lasiodera quadrivittata sp. n., **139**
Lecithodendriidae, Trematoda, **265**
Lent, H., Sôbre dois pretensos reduvídeos hematófagos africanos do gênero *Panstrongylus* Berg, 1879 (Reduviidae, Triatominae), **163**
Lepidoptera, Ctenuchidae, **25**
Leptodesmidae brasileiras, **439**, **453**
Leptodesmus bidenticulatus sp. n., **458**
Leptodesmus laurinhoi sp. n., **460**
Leptodesmus muriensis sp. n., **462**
Leptodesmus pardalis sp. n., **461**
Leptodesmus rubicundus sp. n., **456**
Leptodesmus stimulatus sp. n., **459**
Lepdodesmus triangularis sp. n., **444**
Lewgoy, F., ver Cordeiro, A. R. *et alii*, **69**
Lewgoy, F., ver Tondo, C. V. *et alii*, **245**
Longicórneos neotrópicos, **93**
Lordello, L. G. E. & Zamith, A. P. L., *Meloidogyne coffeicola* sp. n., a pest of coffee trees in the State of Paraná, Brazil (Nematoda, Heteroderidae), **375**
Loxosceles, Cromossomos de aranhas do gênero, **425**
Lucena, D. T., Densidade relativa das principais fases do desenvolvimento de triatomíneos domiciliares, em Pernambuco, **191**
Lucena, D. T., Evolução do *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, no laboratório, **295**

Macedo, M. P., ver Kaplan, M. A., **285**
Machado F.º, D. A., Um novo gênero da família *Quadrigyridae* van Cleave, 1920 (Metacanthocephala, Palaeacanthocephala), **79**
Macrobrachium jelskii, Nota sôbre a biologia do, numa pequena bacia potamográfica do nordeste brasileiro, **121**
Marques, M. & Serrano, L., Adrenalina e noradrenalina na suprarrenal de tartarugas normais e hipofisoprivas, **251**
Meis, L. & Sampaio, J. R., Diferença no tempo de coagulação do sangue estagnado no interior de artérias e veias, **85**
Mello, R. F., ver Amorim, M. F. *et alii*, **359**
Meloidogyne coffeicola sp. n., **375**
Mendes, D., Nota sôbre *Diorymerus auritus* Boh. (Coleoptera, Curculionidae), **21**
Mendonça, J. M., ver Freitas, J. F. T., **269**
Metabolismo respiratório do grupo crítico de espécies de *Drosophila willistoni*, **205**
Metacanthocephala, Palaeacanthocephala, **79**
Metanalges (*Agrialges*) *porzana* sp. n., **150**
Metanalges (*Agrialges*) *saracura* sp. n., **149**
Meyer, C. R. Contribuição ao estudo do gênero *Vianodes* H. Rossi, 1955 (Col., Brentidae, Arrhenodinae), **143**
Mordençagem, Coloração de protozoários intestinais, Métodos rápidos que empregam dupla, **391**
Mordentes e corantes em soluções separadas, Métodos rápidos que empregam, **131**
Mutação no homem, Radiações e taxa de, **171**
Mycetarotes Emery, Revisão do gênero, **277**
Mycetarotes parallelus (Emery), **279**
Mycetarotes senticosus sp. n., **282**

Nefrose do nefron intermediário no cão, induzida pelo veneno crotálico, **359**
Nematoda, Heteroderidae, **375**
Noradrenalina e adrenalina na suprarrenal de tartarugas normais e hipofisoprivas, **251**
Novaes, F. C., As raças geográficas de *Thamnophilus doliatus* (L.) no Brasil (Formicariidae, Aves), **415**
Novaes, F. C., Sôbre *Ramphotrigon megacephala* (Swainson) (Tyrannidae, Aves), **217**

Odontocera cylindrica Serville, 1833, **435**
Ommata (*Ommata*) *paradisiaca* Tippmann, 1953, **94**
Ophistomis zikani Melzer, 1922, **93**

Padrões U. S. P. (1942) e W. H. O. (1949), Atividade biológica de uma preparação de pó de digital nacional (L. F. B. 1959) e dos, **155**
Paiva, M. P., Dimorfismo sexual observado em relações de pêso e comprimento da lagosta *Panulirus argus* (Latr.), **51**
Paiva, M. P. & Barreto, V. A., Notas sôbre a biologia do camarão "sossêgo", *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948, numa pequena bacia potamográfica do nordeste brasileiro, **121**
Palaeacanthocephala, Metacanthocephala, **79**
Palliolisentis g. n., **80**
Palliolisentis ornatus sp. n., **83**
Palliolisentis quinqueungulis sp. n., **81**
Palpomyia, Chave para adultos, **381**
Palpomyia carioca sp. n., **384**
Palpomyia catarinensis sp. n., **385**
Palpomyia conifera Macfie, 1939, **386**
Palpomyia crassicrus Kieffer, 1917, **386**
Palpomyia longicornis (Williston, 1896), **386**
Palpomyia nigrosculellata Lane, 1947, **386**
Palpomyia pampana sp. n., **386**
Palpomyia paraensis sp. n., **387**
Palpomyia paulistensis Lane, 1947, **388**
Palpomyia sordidipes Macfie, 1939, **388**
Palpomyia tamoioi sp. n., **388**
Palpomyia umbella Macfie, 1939, **389**
Panstrongylus Berg, 1879, Chave do gênero e distribuição geográfica das espécies, **168**
Panstrongylus howardi (Neiva, 1911), **164**
Panulirus argus (Latr.), Dimorfismo sexual observado em relações de pêso e comprimento da lagosta, **51**
Panyptila cayennensis (Gmelin, 1789), Sôbre pterilose e bionomia de, **315**
Paraense, W. L. & Deslandes, N., *Drepanotrema surinamense*, with an addendum on *D. petricola* (Planorbidae), **257**
Peracchi, A. L., Contribuição ao estudo dos Cléridas neotropicais (Coleoptera, Cleridae), **63**
Peracchi, A. L., Nova espécie de Clérida do Brasil (Col. Cleridae), **139**
Pereira, O. A., *Ctenuchidae* do Rio Grande do Sul. I. Redescrição da fêmea de *Cosmosoma auge* (L., 1767) (Lepidoptera), **25**
Petersen, J. A., Experimental studies on population physiology. I. Respiratory metabolism on Brazilian sibling species of the *willistoni* group of *Drosophila*, **205**
Petersen, J. A., Studies on the ecology of the genus *Drosophila*. I. Collections in two different life zones and seasonal variations in Rio Grande do Sul, Brazil, **3**

Phalacromyrmex g. n., **89**
Phalacromyrmex fugax sp. n., **90**
Piza Jr., S. T., A note on the chromosomes of an elaterid beetle, **273**
Prado, J. L., ver Valle, J. R., **155**
Prosthodendrium conturbatum sp. n., **265**
Proterospermophora, Diplopoda, **439, 453**
Protozoários de térmita, Métodos para estudo, **403**
Protozoários intestinais, Coloração de, **131, 391**
Pseudoeurydesmus urbanae sp. n., **463**
Pterilose e bionomia de *Panyptila cayennensis* (Gmelin, 1789), **315**
Pterothominx brevidelphis sp. n., **269**
Pulmonata, Gastropoda, **33**

Quadrigyridae van Cleave, 1920, Um novo gênero da família, **79**

Radiações e taxa de mutação no homem, **171**
Ramos, A. O., ver Corrado, A. P., **43**
Ramphotrigon megacephala (Swainson), **217**
Reduviidae, Triatominae, **163**
Resende, H. E., ver Araujo, J. L. B. *et alii*, **33**
Rio Grande do Sul, Populações naturais de Drosophila em duas diferentes regiões do, **3**
Rodrigues, P. A. F., ver Araujo, J. L. B. *et alii*, **33**

Saliba, F., ver Amorim, M. F. *et alii*, **359**
Salzano, F. M., ver Tondo, C. V. *et alii*, **245**
Sampaio, J. R., ver Meis, L. **85**
Sant'Anna, N., Ação da velocidade de perfusão na glicogenólise espontânea em fígado isolado da tartaruga *Chrysemys d'orbignyi*, **237**
Schistosoma mansoni na América do Sul, Vectores provados e potenciais do, **183**
Schubart, O., Leptodesmidae brasileiras. VII. Espécies do Triângulo Mineiro (Diplopoda, Proterospermophora), **439**
Schubart, O., Leptodesmidae brasileiras. VIII. Novas espécies do Estado de São Paulo (Diplopoda, Proterospermophora), **453**
Serrano, L., ver Marques, M., **251**
Silva, G. A., ver Barretto, M. P. *et alii*, **107**
Simões Barbosa, F., Proven and potential vectors of the trematode Schistosoma mansoni in South America, **183**
Sollero, L., Guilherme Guinle, **1**
Strongyloides ratti (Sandground, 1925) em condições de laboratório, Isolamento e manutenção de, **447**
Suprarrenal de tartarugas normais e hipofisoprivas, Adrenalina e noradrenalina, na, **251**

Tartarugas normais e hipofisoprivas, Adrenalina e noradrenalina na suprarrenal de, **251**
Térmita, Métodos para estudo de protozoários de, **403**
Thamnophilus doliatus (L.) no Brasil, As raças geográficas de, **415**
Thamnophilus doliatus capistratus (Lesson), **423**
Thamnophilus doliatus difficilis Hellmayr, **422**.
Thamnophilus doliatus doliatus (L.), **415**
Thamnophilus doliatus novus Pinto, **420**
Thamnophilus doliatus radiatus Vieillot, **419**
Thamnophilus doliatus signatus Zimmer, **417**
Thamnophilus doliatus subradiatus Berlepsch, **418**
Thysanocercus cypseli longitarsus (Trouessart, 1899), **152**
Tondo, C. V., Salzano, F. M. & Lewgoy, F., Paper electrophoresis separation of the anti-H of *Ulex europeus*, **245**
Tondo, C. V., ver Cordeiro, A. R. *et alii*, **69**
Toracópodos em Harpacticoidea, Sôbre a Tendência de fusão do 5.º par de, **327**
Transaminases em 4 espécies de hemoflagelados em cultura, **403**
Travassos, H., Notas ictiológicas. X: *Astyanax saltor* sp. n., do Estado do Pará, Brasil (Actinopterygii, Characoidei), **17**
Triatoma brasiliensis Neiva, 1911, no laboratório, Evolução do, **295**
Triatominae, Reduviidae, **163**
Triatomíneos domiciliares em Pernambuco, Densidade relativa das principais fases do desenvolvimento de, **191**
Trematoda, Lecithodendriidae, **265**
Tyrannidae, Aves, **217**

Uberlandiodesmus g. n., **441**
Uberlandiodesmus guimarai sp. n., **441**
Ulex europeus, Electroforese em papel do anti-H de, **245**

Valle, J. R. & Prado, J. L., Atividade biológica de uma preparação de pó de digital nacional (L. F. B. 1959) e dos padrões U. S. P. (1942) e W. H. O. (1949), **155**
Vectores do *Schistosoma mansoni* na América do Sul, **183**
Veneno crotálico, Nefrose do nefron intermediário no cão, induzida pelo, **359**
Vianodes H. Rossi, 1955, Contribuição ao estudo do gênero, **143**
Vianodes depressus sp. n., **143**
Vianodes facetus (Kleine, 1927), **146**
Vianodes nordestinus sp. n., **145**

Xeneurydesmus g. n., **439**
Xeneurydesmus luridus sp. n., **440**

Zago F.º, H., ver Barretto, M. P., **131**
Zago F.º, H., ver Barretto, M. P. *et alii*, **107**
Zajciw, D., *Chrysoprasis* do grupo *rotundicollis* Bates, 1870, com descrição de uma espécie nova do Brasil (Col., Cerambycidae, Cerambycinae), **289**
Zajciw, D., Estudos sôbre Longicórneos neotrópicos. II. (Coleoptera, Cerambycidae), **93**
Zajciw, D., Nota sôbre *Odontocera cylindrica* Serville, 1833 (Col., Cerambycidae), **435**
Zajciw, D., Um gênero e duas espécies novas de Longicórneos do Brasil (Col., Cerambycidae), **397**
Zamith, A. P. L., ver Lordello, L. G. E., **375**
Zeledón, R., Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. V. Transaminases, **409**